

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/001863

International filing date: 23 February 2005 (23.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 024 014.0
Filing date: 14 May 2004 (14.05.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 08 June 2005 (08.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

03. 06. 2005

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 10 2004 024 014.0

Anmeldetag: 14. Mai 2004

Anmelder/Inhaber: BASF Plant Science GmbH, 67063 Ludwigshafen/DE

Bezeichnung: Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter
Fettsäuren in transgenen Organismen

IPC: C 07 H, C 12 N, C 12 P

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 11. Mai 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Brosig

Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in transgenen Organismen

Beschreibung

- Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus, indem Nukleinsäuren in den Organismus eingebracht werden, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide der Biosynthese des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren, in dem Organismus exprimiert werden. Besonders vorteilhaft sind Nukleinsäuresequenzen, die für eine Δ -6-Desaturase-, eine Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -12-Desaturase- und/oder Δ -6-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft stammen diese Desaturasen und Elongasen aus *Thalassiosira*, *Euglena* oder *Ostreococcus*. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triacylglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren.
- Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem in einer bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Herstellung von ungesättigten ω -3 Fettsäuren sowie ein Verfahren zur Herstellung von Triglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, besonders von ω -3 Fettsäuren mit mehr als drei Doppelbindungen. Die Erfindung betrifft die Herstellung eines transgenen Organismus bevorzugt einer transgenen Pflanze oder eines transgenen Mikroorganismus mit erhöhtem Gehalt an ungesättigten ω -3-Fettsäuren, Ölen oder Lipiden mit ω -3-Doppelbindungen aufgrund der Expression der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Elongasen und Desaturasen vorteilhaft in Verbindung mit ω -3-Desaturasen z.B. einer ω -3-Desaturase aus Pilzen der Familie Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora beispielsweise der Gattung und Art *Phytophthora infestans* oder einer ω -3-Desaturase aus Algen wie der Familie der Prasinophyceae z.B. der Gattung *Ostreococcus* speziell der Gattung und Art *Ostreococcus tauri* oder Diatomeen wie der Gattung *Thalassiosira* speziell der Gattung und Art *Thalassiosira pseudonana*.
- Die Erfindung betrifft weiterhin die Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte, Vektoren und Organismen enthaltend die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Vektoren enthaltend die Nukleinsäuresequenzen und/oder die Nukleinsäurekonstrukte sowie transgene Organismen enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren.
- Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren hergestellt nach dem erfindungsgemäßen Verfahren und deren Verwendung. Außerdem betrifft die Erfindung ungesättigte Fettsäuren sowie Triglyceride mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und deren Verwendung.
- Fettsäuren und Triacylglyceride haben eine Vielzahl von Anwendungen in der Lebensmittelindustrie, der Tierernährung, der Kosmetik und im Pharmabereich.

2

Je nachdem, ob es sich um freie gesättigte und ungesättigte Fettsäuren oder um Triacylglyceride mit einem erhöhten Gehalt an gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren handelt, sind sie für die unterschiedlichsten Anwendungen geeignet. Mehrfach-
5 ungesättigte Fettsäuren wie Linol- und Linolensäure sind für Säugetiere essentiell, da sie nicht von diesen selbst hergestellt werden können. Deshalb stellen mehrfach ungesättigte ω -3-Fettsäuren und ω -6-Fettsäuren einen wichtigen Bestandteil der tierischen und menschlichen Nahrung dar.

Mehrfach ungesättigte langkettige ω -3-Fettsäuren wie Eicosapentaensäure (= EPA, C20:5 ^{Δ 5,8,11,14,17}) oder Docosahexaensäure (= DHA, C22:6 ^{Δ 4,7,10,13,16,19}) sind wichtige
10 Komponenten der menschlichen Ernährung aufgrund ihrer verschiedenen Rollen in der Gesundheit, die Aspekte wie die Entwicklung des kindlichen Gehirns, der Funktionalität des Auges, der Synthese von Hormonen und anderer Signalstoffe, sowie die Vorbeugung von Herz-Kreislauf-Beschwerden, Krebs und Diabetes umfassen (Poulos, A Lipids 30:1-14, 1995; Horrocks, LA und Yeo YK Pharmacol Res 40:211-225, 1999). Es
15 besteht aus diesem Grund ein Bedarf an der Produktion mehrfach ungesättigter langkettiger Fettsäuren.

Aufgrund der heute üblichen Zusammensetzung der menschlichen Nahrung ist ein Zusatz von mehrfach ungesättigten ω -3-Fettsäuren, die bevorzugt in Fischölen
20 vorkommen, zur Nahrung besonders wichtig. So werden beispielsweise mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Docosahexaensäure (= DHA, C22:6 ^{Δ 4,7,10,13,16,19}) oder Eicosapentaensäure (= EPA, C20:5 ^{Δ 5,8,11,14,17}) Babynahrung zur Erhöhung des Nährwertes zugesetzt. Der ungesättigten Fettsäure DHA wird dabei ein positiver Effekt auf die Entwicklung und Aufrechterhaltung von Gehirnfunktionen zugeschrieben.

Im folgenden werden mehrfach ungesättigte Fettsäuren als PUFA, PUFAs, LCPUFA
25 oder LCPUFAs bezeichnet (poly unsaturated fatty acids, **PUFA**, mehrfach ungesättigte Fettsäuren; long chain poly unsaturated fatty acids, **LCPUFA**, langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren).

Hauptsächlich werden die verschiedenen Fettsäuren und Triglyceride aus Mikro-
30 organismen wie Mortierella oder Schizochytrium oder aus Öl-produzierenden Pflanzen wie Soja, Raps, Algen wie Crypthecodinium oder Phaeodactylum und weiteren gewonnen, wobei sie in der Regel in Form ihrer Triacylglyceride (= Triglyceride = Triglycerole) anfallen. Sie können aber auch aus Tieren wie z.B. Fischen gewonnen werden. Die freien Fettsäuren werden vorteilhaft durch Verseifung hergestellt. Sehr
35 langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie DHA, EPA, Arachidonsäure (= ARA, C20:4 ^{Δ 5,8,11,14}), Dihomo- γ -linolensäure (C20:3 ^{Δ 8,11,14}) oder Docosapentaensäure (DPA, C22:5 ^{Δ 7,10,13,16,19}) werden in Ölfruchtpflanzen wie Raps, Soja, Sonnenblume, Färb-safflor nicht synthetisiert. Übliche natürliche Quellen für diese Fettsäuren sind Fische wie Hering, Lachs, Sardine, Goldbarsch, Aal, Karpfen, Forelle, Heilbutt, Makrele, Zander oder Thunfisch oder Algen.

40 Je nach Anwendungszweck werden Öle mit gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. So werden z.B. in der humanen Ernährung Lipide mit ungesättigten Fett-

säuren speziell mehrfach ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. Den mehrfach ungesättigten ω -3-Fettsäuren wird dabei ein positiver Effekt auf den Cholesterinspiegel im Blut und damit auf die Möglichkeit der Prävention einer Herzerkrankung zugeschrieben. Durch Zugabe dieser ω -3-Fettsäuren zur Nahrung kann das Risiko einer Herzerkrankung, eines Schlaganfalls oder von Bluthochdruck deutlich verringert werden. Auch entzündliche speziell chronisch entzündliche Prozesse im Rahmen immunologischer Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis lassen sich durch ω -3-Fettsäuren positiv beeinflussen. Sie werden deshalb Lebensmitteln speziell diätischen Lebensmitteln zugegeben oder finden in Medikamenten Anwendung. ω -6-Fettsäuren wie Arachidonsäure haben bei diesen rheumatischen Erkrankungen aufgrund unserer üblichen Nahrungsmittelzusammensetzung eher einen negativen Effekt auf diese Krankheiten.

ω -3- und ω -6-Fettsäuren sind Vorläufer von Gewebshormonen, den sogenannten Eicosanoiden wie den Prostaglandinen, die sich von der Dihomo- γ -linolensäure, der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten, den Thromoxanen und Leukotrienen, die sich von der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten. Eicosanoide (sog. PG₂-Serie), die aus ω -6-Fettsäuren gebildet werden fördern in der Regel Entzündungsreaktionen, während Eicosanoide (sog. PG₃-Serie) aus ω -3-Fettsäuren geringe oder keine entzündungsfördernde Wirkung haben.

Aufgrund ihrer positiven Eigenschaften hat es in der Vergangenheit nicht an Ansätzen gefehlt, Gene, die an der Synthese von Fettsäuren bzw. Triglyceriden beteiligt sind, für die Herstellung von Ölen in verschiedenen Organismen mit geändertem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren verfügbar zu machen. So wird in WO 91/13972 und seinem US-Äquivalent eine Δ -9-Desaturase beschrieben. In WO 93/11245 wird eine Δ -15-Desaturase in WO 94/11516 wird eine Δ -12-Desaturase beansprucht. Weitere Desaturasen werden beispielsweise in EP-A-0 550 162, WO 94/18337, WO 97/30582, WO 97/21340, WO 95/18222, EP-A-0 794 250, Stukey et al., J. Biol. Chem., 265, 1990: 20144-20149, Wada et al., Nature 347, 1990: 200-203 oder Huang et al., Lipids 34, 1999: 649-659 beschrieben. Die biochemische Charakterisierung der verschiedenen Desaturasen ist jedoch bisher nur unzureichend erfolgt, da die Enzyme als membrangebundene Proteine nur sehr schwer zu isolieren und zu charakterisieren sind (McKeon et al., Methods in Enzymol. 71, 1981: 12141-12147, Wang et al., Plant Physiol. Biochem., 26, 1988: 777-792). In der Regel erfolgt die Charakterisierung membrangebundener Desaturasen durch Einbringung in einen geeigneten Organismus, der anschließend auf Enzymaktivität mittels Edukt- und Produktanalyse untersucht wird. Δ -6-Desaturasen werden in WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, WO00/21557 und WO 99/27111 beschrieben und auch die Anwendung zur Produktion in transgenen Organismen beschrieben wie in WO98/46763 WO98/46764, WO9846765. Dabei wird auch die Expression verschiedener Desaturasen wie in WO99/64616 oder WO98/46776 und Bildung polyungesättigter Fettsäuren beschrieben und beansprucht. Bzgl. der Effektivität der Expression von Desaturasen und ihren Einfluss auf die Bildung polyungesättigter Fettsäuren ist anzumerken, dass durch Expression einer einzelnen Desaturase wie bisher beschrieben lediglich geringe

Gehalte an ungesättigten Fettsäuren/Lipiden wie z.B. γ -Linolensäure und Stearidonsäure erreicht wurden. Weiterhin wurde in der Regel ein Gemisch aus ω -3- und ω -6-Fettsäuren erhalten.

5 Besonders geeignete Mikroorganismen zur Herstellung von PUFAs sind Mikroorganismen wie Mikroalgen wie *Phaeodactylum tricornutum*, *Porphiridium*-Arten, *Thraustochytrien*-Arten, *Schizochytrien*-Arten oder *Cryptocodinium*-Arten, Ciliaten, wie *Stylonychia* oder *Colpidium*, Pilze, wie *Mortierella*, *Entomophthora* oder *Mucor* und/oder Moosen wie *Physcomitrella*, *Ceratodon* und *Marchantia* (R. Vazhappilly & F. Chen (1998) *Botanica Marina* 41: 553-558; K. Totani & K. Oba (1987) *Lipids* 22: 1060-1062; M. Akimoto et al. (1998) *Appl. Biochemistry and Biotechnology* 73: 269-278).
10 Durch Stammselektion ist eine Anzahl von Mutantenstämmen der entsprechenden Mikroorganismen entwickelt worden, die eine Reihe wünschenswerter Verbindungen, einschließlich PUFAs, produzieren. Die Mutation und Selektion von Stämmen mit verbesserter Produktion eines bestimmten Moleküls wie den mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist jedoch ein zeitraubendes und schwieriges Verfahren. Deshalb werden,
15 wann immer möglich wie oben beschrieben gentechnologische Verfahren bevorzugt. Mit Hilfe der vorgenannten Mikroorganismen lassen sich jedoch nur begrenzte Mengen der gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie DPA, EPA oder ARA herstellen. Wobei diese in der Regel je nach verwendeten Mikroorganismus als Fettsäuregemische aus beispielsweise EPA, DPA und ARA anfallen.
20

Für die Synthese von Arachidonsäure, Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) werden verschiedene Synthesewege diskutiert (Figur. 1). So erfolgt die Produktion von EPA bzw. DHA in marinen Bakterien wie *Vibrio* sp. oder *Shewanella* sp. nach dem Polyketid-Weg (Yu, R. et al. *Lipids* 35:1061-1064, 2000; Takeyama, H. et al. *Microbiology* 143:2725-2731, 1997).
25

Ein alternative Strategie verläuft über die wechselnde Aktivität von Desaturasen und Elongasen (Zank, T.K. et al. *Plant Journal* 31:255-268, 2002; Sakuradani, E. et al. *Gene* 238:445-453, 1999). Eine Modifikation des beschriebenen Weges über $\Delta 6$ -Desaturase, $\Delta 6$ -Elongase, $\Delta 5$ -Desaturase, $\Delta 5$ -Elongase, $\Delta 4$ -Desaturase ist der Sprecher-Syntheseweg (Sprecher 2000, *Biochim. Biophys. Acta* 1486:219-231) in Säugetieren. Anstelle der $\Delta 4$ -Desaturierung erfolgt hier ein weiterer Elongationsschritt auf C_{24} , eine weitere $\Delta 6$ -Desaturierung und abschliessend eine β -Oxidation auf die C_{22} -Kettenlänge. Für die Herstellung in Pflanzen und Mikroorganismen ist der sogenannte Sprecher-Syntheseweg (siehe Figur 1) allerdings nicht geeignet, da die Regulationsmechanismen nicht bekannt sind.
30
35

Die polyungesättigten Fettsäuren können entsprechend ihrem Desaturierungsmuster in zwei große Klassen, in ω -6- oder ω -3-Fettsäuren eingeteilt werden, die metabolisch und funktionell unterschiedlich Aktivitäten haben (Fig. 1).

40 Als Ausgangsprodukt für den ω -6-Stoffwechselweg fungiert die Fettsäure Linolsäure ($18:2^{\Delta 9,12}$), während der ω -3-Weg über Linolensäure ($18:3^{\Delta 9,12,15}$) abläuft. Linolensäure

wird dabei durch Aktivität einer ω -3-Desaturase gebildet (Tocher et al. 1998, Prog. Lipid Res. 37, 73-117 ; Domergue et al. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113).

Säugetiere und damit auch der Mensch verfügen über keine entsprechende Desaturaseaktivität (Δ -12- und ω -3-Desaturase) und müssen diese Fettsäuren (essentielle Fettsäuren) über die Nahrung aufnehmen. Über die Abfolge von Desaturase- und Elongase-Reaktionen werden dann aus diesen Vorstufen die physiologisch wichtigen polyungesättigten Fettsäuren Arachidonsäure (= ARA, 20:4 ^{Δ 5,8,11,14}), eine ω -6-Fettsäure und die beiden ω -3-Fettsäuren Eicosapentaen- (= EPA, 20:5 ^{Δ 5,8,11,14,17}) und Docosahexaensäure (DHA, 22:6 ^{Δ 4,7,10,13,17,19}) synthetisiert. Die Applikation von ω -3-Fettsäuren zeigt dabei die wie oben beschrieben therapeutische Wirkung bei der Behandlung von Herz-Kreislaufkrankheiten (Shimikawa 2001, World Rev. Nutr. Diet. 88, 100-108), Entzündungen (Calder 2002, Proc. Nutr. Soc. 61, 345-358) und Arthritis (Cleland und James 2000, J. Rheumatol. 27, 2305-2307).

Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist es deshalb wichtig bei der Synthese mehrfach ungesättigter Fettsäuren eine Verschiebung zwischen dem ω -6-Syntheseweg und dem ω -3-Syntheseweg (siehe Figur 1) zu erreichen, so dass mehr ω -3-Fettsäuren hergestellt werden. In der Literatur wurden die enzymatischen Aktivitäten verschiedener ω -3-Desaturasen beschrieben, die C_{18:2}-, C_{22:4}- oder C_{22:5}-Fettsäuren desaturieren (siehe Figur 1). Keine der biochemisch beschriebenen Desaturasen setzt jedoch ein breites Substratspektrum des ω -6-Synthesewegs zu den entsprechenden Fettsäuren des ω -3-Syntheseweg um.

Es besteht daher weiterhin ein großer Bedarf an einer ω -3-Desaturase, die zur Herstellung von ω -3-polyungesättigte Fettsäuren geeignet ist. Alle bekannten pflanzlichen und cyanobakteriellen ω -3-Desaturasen desaturieren C₁₈-Fettsäuren mit Linolsäure als Substrat, können aber keine C₂₀- oder C₂₂-Fettsäuren desaturieren.

Von dem Pilz *Saprolegnia dicilina* ist eine ω -3-Desaturase bekannt (Pereira et al. 2003, Biochem. J. 2003 Dez, Manuskript BJ20031319), die C₂₀-mehrfach ungesättigte Fettsäuren desaturieren kann. Von Nachteil ist jedoch, dass diese ω -3-Desaturase keine C₁₈- oder C₂₂-PUFAs, wie den wichtigen Fettsäuren C_{18:2}-, C_{22:4}- oder C_{22:5}-Fettsäuren des ω -6-Syntheseweg desaturieren kann. Ein weiterer Nachteil dieses Enzyms ist, dass es keine Fettsäuren desaturieren kann, die an Phospholipide gebunden sind. Es werden nur die CoA-Fettsäureester umgesetzt.

Die Verlängerung von Fettsäuren durch Elongasen um 2 bzw. 4 C-Atome ist für die Produktion von C₂₀- bzw. C₂₂-PUFAs von entscheidender Bedeutung. Dieser Prozess verläuft über 4 Stufen. Der erste Schritt stellt die Kondensation von Malonyl-CoA an das Fettsäure-Acyl-CoA durch die Ketoacyl-CoA-Synthase (KCS, im weiteren Text als Elongase bezeichnet). Es folgt dann ein Reduktionsschritt (Ketoacyl-CoA-Reduktase, KCR), ein Dehydratationsschritt (Dehydratase) und ein abschliessender Reduktionsschritt (enoyl-CoA-Reduktase). Es wurde postuliert, dass die Aktivität der Elongase die Spezifität und Geschwindigkeit des gesamten Prozesses beeinflussen (Millar and Kunst, 1997 Plant Journal 12:121-131).

In der Vergangenheit wurden zahlreiche Versuche unternommen, Elongase Gene zu erhalten. Millar and Kunst, 1997 (Plant Journal 12:121-131) und Millar et al. 1999, (Plant Cell 11:825-838) beschreiben die Charakterisierung von pflanzlichen Elongasen zur Synthese von einfachungesättigten langkettigen Fettsäuren (C22:1) bzw. zur

5 Synthese von sehr langkettigen Fettsäuren für die Wachsbildung in Pflanzen (C₂₈-C₃₂). Beschreibungen zur Synthese von Arachidonsäure und EPA finden sich beispielsweise in WO0159128, WO0012720, WO02077213 und WO0208401. Die Synthese von mehrfachungesättigter C24 Fettsäuren ist beispielsweise in Tvrdik et al 2000, JCB 149:707-717 oder WO0244320 beschrieben.

- 10 Zur Herstellung von DHA (C22:6 n-3) in Organismen, die diese Fettsäure natürlicherweise nicht produzieren, wurde bisher keine spezifische Elongase beschrieben. Bisher wurden nur Elongasen beschrieben, die C₂₀- bzw. C₂₄-Fettsäuren bereitstellen. Eine Δ -5-Elongase-Aktivität wurde bisher noch nicht beschrieben.

- 15 Höhere Pflanzen enthalten mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Linolsäure (C18:2) und Linolensäure (C18:3). ARA, EPA und DHA kommen im Samenöl höherer Pflanzen gar nicht oder nur in Spuren vor (E. Ucciani: Nouveau Dictionnaire des Huiles Végétales. Technique & Documentation – Lavoisier, 1995. ISBN: 2-7430-0009-0). Es wäre jedoch vorteilhaft, in höheren Pflanzen, bevorzugt in Ölsaaten wie Raps, Lein, Sonnenblume und Soja, LCPUFAs herzustellen, da auf diese Weise große Mengen qualitativ
- 20 hochwertiger LCPUFAs für die Lebensmittelindustrie, die Tierernährung und für pharmazeutische Zwecke kostengünstig gewonnen werden können. Hierzu müssen vorteilhaft über gentechnische Methoden Gene kodierend für Enzyme der Biosynthese von LCPUFAs in Ölsaaten eingeführt und exprimiert werden. Dies sind Gene, die beispielsweise für Δ -6-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen oder Δ -4-
- 25 Desaturasen codieren. Diese Gene können vorteilhaft aus Mikroorganismen und niederen Pflanzen isoliert werden, die LCPUFAs herstellen und in den Membranen oder Triacylglyceriden einbauen. So konnten bereits Δ -6-Desaturase-Gene aus dem Moos Physcomitrella patens und Δ -6-Elongase-Gene aus P. patens und dem Nematoden C. elegans isoliert.

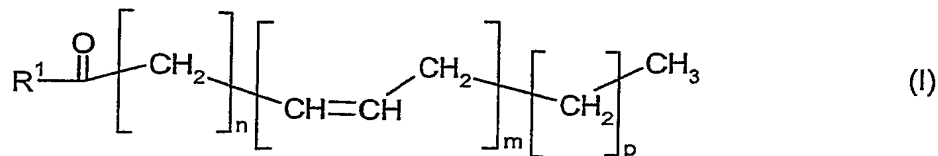
- 30 Erste transgene Pflanzen, die Gene kodierend für Enzyme der LCPUFA-Biosynthese enthalten und exprimieren und LCPUFAs produzieren wurden beispielsweise in DE 102 19 203 (Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Pflanzen) erstmals beschrieben. Diese Pflanzen produzieren allerdings LCPUFAs in Mengen, die für eine Aufarbeitung der in den Pflanzen enthaltenen Öle noch weiter
- 35 optimiert werden müssen.

Um eine Anreicherung der Nahrung und/oder des Futters mit diesen mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu ermöglichen, besteht daher ein großer Bedarf an einem einfachen, kostengünstigen Verfahren zur Herstellung dieser mehrfach ungesättigten Fettsäuren speziell in eukaryontischen Systemen.

- 40 Es bestand daher die Aufgabe weitere Gene bzw. Enzyme, die für die Synthese von LCPUFAs geeignet sind, speziell Gene, die eine Δ -5-Elongase-, eine Δ -5-Desaturase-,

Δ -4-Desaturase-, Δ -12-Desaturase- oder Δ -6-Desaturaseaktivität aufweisen, für die Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren zur Verfügung zu stellen. Eine weitere Aufgabe dieser Erfindung war die Bereitstellung von Genen bzw. Enzymen, die eine Verschiebung von den ω -6-Fettsäuren zu den ω -3-Fettsäuren hin ermöglichen.

- 5 Weiterhin bestand die Aufgabe ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus vorteilhaft in einem eukaryontischen Organismus bevorzugt in einer Pflanze oder einem Mikroorganismus zu entwickeln. Diese Aufgabe wurde durch das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I



10

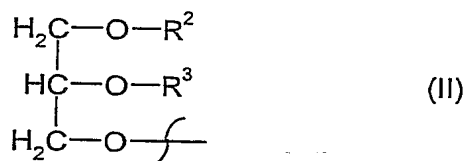
in transgenen Organismen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% dieser Verbindungen bezogen auf den Gesamtlipidgehalt des transgenen Organismus, dadurch gekennzeichnet, dass es folgende Verfahrensschritte umfasst:

- 15 a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -9-Elongase- und/oder eine Δ -6-Desaturase-Aktivität codiert, und
- b) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -8-Desaturase- und/oder eine Δ -6-Elongase-Aktivität codiert, und
- c) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Desaturase-Aktivität codiert, und
- 20 d) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Elongase-Aktivität codiert, und
- e) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -4-Desaturase-Aktivität codiert, und

wobei die Variablen und Substituenten in der Formel I die folgende Bedeutung haben:

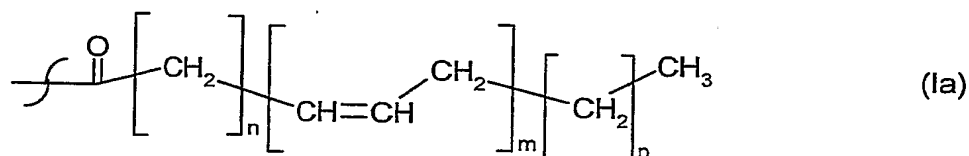
- 25 $\text{R}^1 =$ Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II

8



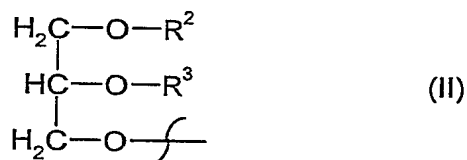
5 $\text{R}^2 =$ Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-,

$\text{R}^3 =$ Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-, oder R^2 oder R^3 unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia:



10 $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 9 , $m = 2, 3, 4, 5$ oder 6 und $p = 0$ oder 3 , gelöst.

R^1 bedeutet in der allgemeinen Formel I Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



15 Die oben genannten Reste von R^1 sind immer in Form ihrer Thioester an die Verbindungen der allgemeinen Formel I gebunden.

20 R^2 bedeutet in der allgemeinen Formel II-Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-,

25 Als Alkylreste seien substituiert oder unsubstituiert, gesättigt oder ungesättigte $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-Ketten wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Hepta-

- decylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- or n-Tetracosanylcarbonyl- genannt, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Gesättigte oder ungesättigte C₁₀-C₂₂-Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten, sind bevorzugt. Besonders bevorzugt sind gesättigte und/oder ungesättigte C₁₀-C₂₂-Alkylcarbonylreste wie C₁₀-Alkylcarbonyl-, C₁₁-Alkylcarbonyl-, C₁₂-Alkylcarbonyl-, C₁₃-Alkylcarbonyl-, C₁₄-Alkylcarbonyl-, C₁₆-Alkylcarbonyl-, C₁₈-Alkylcarbonyl-, C₂₀-Alkylcarbonyl- oder C₂₂-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C₁₆-C₂₂-Alkylcarbonylreste wie C₁₆-Alkylcarbonyl-, C₁₈-Alkylcarbonyl-, C₂₀-Alkylcarbonyl- oder C₂₂-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Diese vorteilhaften Reste können zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten. Die besonders vorteilhaften Reste mit 20 oder 22 Kohlenstoffatomen in der Fettsäurekette enthalten bis zu sechs Doppelbindungen, vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.
- 20 R³ bedeutet in der allgemeinen Formel II Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes C₂-C₂₄-Alkylcarbonyl.

- Als Alkylreste seien substituiert oder unsubstituiert, gesättigt oder ungesättigte C₂-C₂₄-Alkylcarbonyl-Ketten wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- or n-Tetracosanylcarbonyl- genannt, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Gesättigte oder ungesättigte C₁₀-C₂₂-Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten, sind bevorzugt. Besonders bevorzugt sind gesättigte und/oder ungesättigte C₁₀-C₂₂-Alkylcarbonylreste wie C₁₀-Alkylcarbonyl-, C₁₁-Alkylcarbonyl-, C₁₂-Alkylcarbonyl-, C₁₃-Alkylcarbonyl-, C₁₄-Alkylcarbonyl-, C₁₆-Alkylcarbonyl-, C₁₈-Alkylcarbonyl-, C₂₀-Alkylcarbonyl- oder C₂₂-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C₁₆-C₂₂-Alkylcarbonylreste wie C₁₆-Alkylcarbonyl-, C₁₈-Alkylcarbonyl-, C₂₀-Alkylcarbonyl- oder C₂₂-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Diese vorteilhaften Reste können zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten. Die besonders vorteilhaften Reste mit 20 oder 22 Kohlenstoffatomen in der Fettsäurekette enthalten bis zu sechs Doppelbindungen, vorteilhaft drei,

vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

Die oben genannten Reste von R^1 , R^2 and R^3 können mit Hydroxyl- und/oder Epoxygruppen substituierte sein und/oder können Dreifachbindungen enthalten.

- 5 Vorteilhaft enthalten die im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren mindestens zwei vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen. Besonders vorteilhaft enthalten die Fettsäuren vier fünf oder sechs Doppelbindungen. Im Verfahren hergestellte Fettsäuren haben vorteilhaft 18-, 20- oder 22-C-Atome in der Fettsäurekette, bevorzugt enthalten die Fettsäuren 20 oder 22 Kohlenstoffatome in der Fettsäurekette. Vorteilhaft werden gesättigte Fettsäuren mit den im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren wenig oder gar nicht umgesetzt. Unter wenig ist zu verstehen, das im Vergleich zu mehrfach ungesättigten Fettsäuren die gesättigten Fettsäuren mit weniger als 5 % der Aktivität, vorteilhaft weniger als 3 %, besonders vorteilhaft mit weniger als 2 %, ganz besonders bevorzugt mit weniger als 1; 0,5; 0,25 oder 0,125 % umgesetzt werden. Diese hergestellten Fettsäuren können als einziges Produkt im Verfahren hergestellt werden oder in einem Fettsäuregemisch vorliegen.

- Bei den im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen handelt es sich um isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -4-Desaturaseaktivität codieren.

Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturaseaktivität codieren, verwendet ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- 25 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 dargestellten Sequenz, oder
- 30
- 35
- 40 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18,

5 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28,
 SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38,
 SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48,
 SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62,
 SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72,
 SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82,
 SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94,
 SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO:
 10 104, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ
 ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138 dargestell-
 ten Aminosäuresequenzen ableiten lassen, oder

c) Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7,
 SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17,
 SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27,
 SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37,
 SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,
 SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61,
 SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71,
 SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81,
 SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93,
 SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO:
 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ
 ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 dargestell-
 25 ten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Identität auf
 Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8,
 SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18,
 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28,
 SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38,
 SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48,
 SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62,
 SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72,
 SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82,
 SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94,
 SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO:
 35 104, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ
 ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138 codieren
 und eine Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-
 Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.

40 Vorteilhaft bedeuten die Substituenten R^2 oder R^3 in den allgemeinen Formeln I und II
 unabhängig voneinander gesättigtes oder ungesättigtes C_{18} - C_{22} -Alkylcarbonyl-,
 besonders vorteilhaft bedeuten sie unabhängig voneinander ungesättigtes C_{18} -, C_{20} -
 oder C_{22} -Alkylcarbonyl- mit mindestens zwei Doppelbindungen.

Eine bevorzugte Ausführungsform des Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass eine Nukleinsäuresequenz zusätzlich in den Organismus eingebracht wird, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturase-Aktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- 5 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz, oder
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 10 c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 codieren und eine ω 3-Desaturaseaktivität aufweisen.

15 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass eine Nukleinsäuresequenz zusätzlich in den Organismus eingebracht wird, die für Polypeptide mit Δ -12-Desaturaseaktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz, oder
- 20 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine Δ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 25

30 Diese vorgenannten Δ -12-Desaturasesequenzen können allein oder in Kombination mit den ω 3-Desaturasesequenzen mit den im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen, die für Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen codieren verwendet werden.

Tabelle 1 gibt die Nukleinsäuresequenzen, den Herkunftsorganismus und die Sequenz-ID-Nummer wieder.

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
1.	<i>Euglena gracilis</i>	Δ -8-Desaturase	SEQ ID NO: 1
2.	<i>Isochrysis galbana</i>	Δ -9-Elongase	SEQ ID NO: 3
3.	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 5
4.	<i>Ceratodon purpureus</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 7
5.	<i>Physcomitrella patens</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 9
6.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 11
7.	<i>Mortierella alpina</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 13
8.	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 15
9.	<i>Borago officinalis</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 17
10.	<i>Ceratodon purpureus</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 19
11.	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 21
12.	<i>Physcomitrella patens</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 23
13.	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 25
14.	<i>Physcomitrella patens</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 27
15.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 29
16.	<i>Phytophthora infestans</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 31
17.	<i>Mortierella alpina</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 33
18.	<i>Mortierella alpina</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 35
19.	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 37
20.	<i>Euglena gracilis</i>	Δ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 39
21.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	Δ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 41
22.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 43
23.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 45
24.	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 47
25.	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 49
26.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 51
27.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 53
28.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 59

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
29.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 61
30.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 63
31.	<i>Thraustochytrium aureum</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 65
32.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 67
33.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 69
34.	<i>Primula farinosa</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 71
35.	<i>Primula vialii</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 73
36.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 75
37.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 77
38.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 79
39.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 81
40.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 83
41.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 85
42.	<i>Phytophthora infestans</i>	ω -3-Desaturase	SEQ ID NO: 87
43.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 89
44.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 91
45.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 93
46.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 95
47.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 97
48.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 99
49.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 101
50.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 103
51.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	ω -3-Desaturase	SEQ ID NO: 105
52.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -12-Desaturase	SEQ ID NO: 107
53.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Δ -12-Desaturase	SEQ ID NO: 109
54.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -6-Elongase	SEQ ID NO: 111
55.	<i>Ostreococcus tauri</i>	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 113
56.	<i>Xenopus laevis</i> (BC044967)	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 117
57.	<i>Ciona intestinalis</i> (AK112719)	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 119

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
58.	Euglena gracilis	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 131
59.	Euglena gracilis	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO:133
60.	Arabidopsis thaliana	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 135
61.	Arabidopsis thaliana	Δ -5-Elongase	SEQ ID NO: 137

Die im Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind vorteilhaft in Membranlipiden und/oder Triacylglyceriden gebunden, können aber auch als freie Fettsäuren oder aber gebunden in Form anderer Fettsäureester in den Organismen vorkommen. Dabei können sie als "Reinprodukte" oder aber vorteilhaft in Form von Mischungen verschiedener Fettsäuren oder Mischungen unterschiedlicher Glyceride vorliegen. Die in den Triacylglyceriden gebundenen verschiedenen Fettsäuren lassen sich dabei von kurzkettigen Fettsäuren mit 4 bis 6 C-Atomen, mittelkettigen Fettsäuren mit 8 bis 12 C-Atomen oder langkettigen Fettsäuren mit 14 bis 24 C-Atomen ableiten, bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren besonders bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren LCPUFAs von C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuren.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden vorteilhaft Fettsäureester mit mehrfach ungesättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäureester, vorteilhaft mit mindestens drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäureester, besonders vorteilhaft von mindestens fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäureester hergestellt und führen vorteilhaft zur Synthese von Linolsäure (=LA, C18:2^{Δ9,12}), γ-Linolensäure (= GLA, C18:3^{Δ6,9,12}), Stearidonsäure (= SDA, C18:4^{Δ6,9,12,15}), Dihomo-γ-Linolensäure (= DGLA, 20:3^{Δ8,11,14}), ω-3-Eicosatetraensäure (= ETA, C20:4^{Δ5,8,11,14}), Arachidonsäure (ARA, C20:4^{Δ5,8,11,14}), Eicosapentaensäure (EPA, C20:5^{Δ5,8,11,14,17}), ω-6-Docosapentaensäure (C22:5^{Δ4,7,10,13,16}), ω-6-Docosatetraensäure (C22:4^{Δ7,10,13,16}), ω-3-Docosapentaensäure (= DPA, C22:5^{Δ7,10,13,16,19}), Docosahexaensäure (= DHA, C22:6^{Δ4,7,10,13,16,19}) oder deren Mischungen, bevorzugt ARA, EPA und/oder DHA. Ganz besonders bevorzugt werden, ω-3-Fettsäuren wie EPA und/oder DHA hergestellt.

Die Fettsäureester mit mehrfach ungesättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen können aus den Organismen, die für die Herstellung der Fettsäureester verwendet wurden, in Form eines Öls oder Lipids beispielsweise in Form von Verbindungen wie Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide wie Glycosphingolipide, Phospholipide wie Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylcholin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol oder Diphosphatidylglycerol, Monoacylglyceride, Diacylglyceride, Triacylglyceride oder sonstige Fettsäureester wie die AcetylCoenzymA-Ester, die die mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit mindestens zwei, drei, vier, fünf oder sechs bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten, isoliert werden, vorteilhaft werden sie in der Form ihrer Diacylglyceride, Triacylglyceride und/oder in Form des Phosphatidylcholin isoliert, besonders bevorzugt in der Form der Triacylglyceride. Neben diesen Estern sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren

auch als freie Fettsäuren oder gebunden in anderen Verbindungen in den Organismen vorteilhaft den Pflanzen enthalten. In der Regel liegen die verschiedenen vorgenannten Verbindungen (Fettsäureester und frei Fettsäuren) in den Organismen in einer ungefähren Verteilung von 80 bis 90 Gew.-% Triglyceride, 2 bis 5 Gew.-% Diglyceride, 5 bis 10 Gew.-% Monoglyceride, 1 bis 5 Gew.-% freie Fettsäuren, 2 bis 8 Gew.-% Phospholipide vor, wobei sich die Summe der verschiedenen Verbindungen zu 100 Gew.-% ergänzt.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden die hergestellten LCPUFAs mit einem Gehalt von mindestens 3 Gew.-%, vorteilhaft von mindestens 5 Gew.-%, bevorzugt von mindestens 8 Gew.-%, besonders bevorzugt von mindestens 10 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt von mindestens 15 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren in den transgenen Organismen vorteilhaft in einer transgenen Pflanze hergestellt. Dabei werden vorteilhaft C₁₈- und/oder C₂₀-Fettsäuren, die in den Wirtsorganismen vorhanden sind, zu mindestens 10 %, vorteilhaft zu mindestens 20 %, besonders vorteilhaft zu mindestens 30 %, ganz besonders vorteilhaft zu mindestens 40 % in die entsprechenden Produkte wie DPA oder DHA, um nur zwei beispielhaft zu nennen, umgesetzt. Vorteilhaft werden die Fettsäuren in gebundener Form hergestellt. Mit Hilfe der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren lassen sich diese ungesättigten Fettsäuren an sn1-, sn2- und/oder sn3-Position der vorteilhaft hergestellten Triglyceride bringen. Da im erfindungsgemäßen Verfahren von den Ausgangsverbindungen Linolsäure (C₁₈:2) bzw. Linolensäure (C₁₈:3) mehrere Reaktionsschritte durchlaufen werden, fallen die Endprodukte des Verfahrens wie beispielsweise Arachidonsäure (ARA), Eicosapentaensäure (EPA), ω-6-Docosapentaensäure oder DHA nicht als absolute Reinprodukte an, es sind immer auch geringe Spuren der Vorstufen im Endprodukt enthalten. Sind in dem Ausgangsorganismus bzw. in der Ausgangspflanze beispielsweise sowohl Linolsäure als auch Linolensäure vorhanden, so liegen die Endprodukte wie ARA, EPA oder DHA als Mischungen vor. Die Vorstufen sollten vorteilhaft nicht mehr als 20 Gew.-%, bevorzugt nicht mehr als 15 Gew.-%, besonders bevorzugt nicht mehr als 10 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt nicht mehr als 5 Gew.-% bezogen auf die Menge des jeweiligen Endprodukts betragen. Vorteilhaft werden in einer transgenen Pflanze als Endprodukte nur ARA, EPA oder nur DHA im erfindungsgemäßen Verfahren gebunden oder als freie Säuren hergestellt. Werden die Verbindungen ARA, EPA und DHA gleichzeitig hergestellt, werden sie vorteilhaft in einem Verhältnis von mindesten 1:1:2 (EPA:ARA:DHA), vorteilhaft von mindestens 1:1:3, bevorzugt von 1:1:4, besonders bevorzugt von 1:1:5 hergestellt.

Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, enthalten vorteilhaft 6 bis 15 % Palmitinsäure, 1 bis 6 % Stearinsäure; 7 – 85 % Ölsäure; 0,5 bis 8 % Vaccensäure, 0,1 bis 1 % Arachinsäure, 7 bis 25 % gesättigte Fettsäuren, 8 bis 85 % einfach ungesättigte Fettsäuren und 60 bis 85 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren jeweils bezogen auf 100 % und auf den Gesamtfettsäuregehalt der Organismen. Als vorteilhafte mehrfach ungesättigte Fettsäure sind in den Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische bevorzugt mindestens 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 oder 1 % bezogen auf den Gesamtfettsäurege-

- halt an Arachidonsäure enthalten. Weiterhin enthalten die Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, vorteilhaft Fettsäuren ausgewählt aus der Gruppe der Fettsäuren Erucasäure (13-Docosaensäure), Sterculinsäure (9,10-Methylene octadec-9-enonsäure), Malvalinsäure (8,9-Methylen Heptadec-8-enonsäure), Chaulmoogrinsäure (Cyclopentendodecansäure), Furan-Fettsäure (9,12-Epoxy-octadeca-9,11-dienonsäure), Vernonsäure (9,10-Epoxyoctadec-12-enonsäure), Tarinsäure (6-Octadecynonsäure), 6-Nonadecynonsäure, Santalbinsäure (11-Octadecen-9-ynoic acid), 6,9-Octadecenynonsäure, Pyrulinsäure (10-Heptadecen-8-ynonsäure), Crepenyninsäure (9-Octadecen-12-ynonsäure), 13,14-Dihydrooropheinsäure, Octadecen-13-ene-9,11-diynonsäure, Petroselensäure (cis-6-Octadecenonsäure), 9c,12t-Octadecadiensäure, Calendulasäure (8t10t12c-Octadecatriensäure), Catalpinsäure (9t11t13c-Octadecatriensäure), Eleosterinsäure (9c11t13t-Octadecatriensäure), Jacarinsäure (8c10t12c-Octadecatriensäure), Punicinsäure (9c11t13c-Octadecatriensäure), Parinarinsäure (9c11t13t15c-Octadecatetraensäure), Pinolensäure (all-cis-5,9,12-Octadecatriensäure), Laballensäure (5,6-Octadecadienallensäure), Ricinolsäure (12-Hydroxyölsäure) und/oder Coriolinsäure (13-Hydroxy-9c,11t-Octadecadienonsäure). Die vorgenannten Fettsäuren kommen in den nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemischen in der Regel vorteilhaft nur in Spuren vor, das heißt sie kommen bezogen auf die Gesamtfettsäuren zu weniger als 30 %, bevorzugt zu weniger als 25 %, 24 %, 23 %, 22 % oder 21 %, besonders bevorzugt zu weniger als 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 % oder 5 %, ganz besonders bevorzugt zu weniger als 4 %, 3 %, 2 % oder 1 % vor. Vorteilhaft enthalten die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische weniger als 0,1 % bezogen auf die Gesamtfettsäuren oder keine Buttersäure, kein Cholesterin, keine Clupanodonsäure (= Docosapentaensäure, C22:5^{Δ4,8,12,15,21}) sowie keine Nisinsäure (Tetracosahexaensäure, C23:6^{Δ3,8,12,15,18,21}).

- 30 Durch die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen bzw. im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen kann eine Steigerung der Ausbeute an mehrfach ungesättigten Fettsäuren von mindestens 50 %, vorteilhaft von mindestens 80 %, besonders vorteilhaft von mindestens 100 %, ganz besonders vorteilhaft von mindestens 150 % gegenüber den nicht transgenen Ausgangsorganismus beispielsweise einer Hefe, einer Alge, einem Pilz oder einer Pflanze wie Arabidopsis oder Lein beim Vergleich in der GC-Analyse siehe Beispiele erreicht werden.

- 35 Auch chemisch reine mehrfach ungesättigte Fettsäuren oder Fettsäurezusammensetzungen sind nach den vorbeschriebenen Verfahren darstellbar. Dazu werden die Fettsäuren oder die Fettsäurezusammensetzungen aus dem Organismus wie den Mikroorganismen oder den Pflanzen oder dem Kulturmedium, in dem oder auf dem die Organismen angezogen wurden, oder aus dem Organismus und dem Kulturmedium in bekannter Weise beispielsweise über Extraktion, Destillation, Kristallisation, Chromatographie oder Kombinationen dieser Methoden isoliert. Diese chemisch reinen Fettsäuren oder Fettsäurezusammensetzungen sind für Anwendungen im Bereich
- 40

der Lebensmittelindustrie, der Kosmetikindustrie und besonders der Pharmaindustrie vorteilhaft.

Als Organismus für die Herstellung im erfindungsgemäßen Verfahren kommen prinzipiell alle Organismen wie Mikroorganismen, nicht-humane Tiere oder Pflanzen in Frage.

Als Pflanzen kommen prinzipiell alle Pflanzen in Frage, die in der Lage sind Fettsäuren zu synthetisieren wie alle dicotylen oder monokotylen Pflanzen, Algen oder Moose. Vorteilhaft Pflanzen sind ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzenfamilien Adelotheceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Caricaceae, Cannabaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae, Crypthecodiniaceae, Cucurbitaceae, Ditrachaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Gramineae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Linaceae, Euglenaceae, Prasinophyceae oder Gemüsepflanzen oder Zierpflanzen wie Tagetes in Betracht.

Beispielhaft seien die folgenden Pflanzen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Adelotheceae wie die Gattungen *Physcomitrella* z.B. die Gattung und Arten *Physcomitrella patens*, Anacardiaceae wie die Gattungen *Pistacia*, *Mangifera*, *Anacardium* z.B. die Gattung und Arten *Pistacia vera* [Pistazie], *Mangifera indica* [Mango] oder *Anacardium occidentale* [Cashew], Asteraceae wie die Gattungen *Calendula*, *Carthamus*, *Centaurea*, *Cichorium*, *Cynara*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Locusta*, *Tagetes*, *Valeriana* z.B. die Gattung und Arten *Calendula officinalis* [Garten-Ringelblume], *Carthamus tinctorius* [Färberdistel, safflower], *Centaurea cyanus* [Kornblume], *Cichorium intybus* [Wegwarte], *Cynara scolymus* [Artichoke], *Helianthus annuus* [Sonnenblume], *Lactuca sativa*, *Lactuca crispera*, *Lactuca esculenta*, *Lactuca scariola* L. ssp. *sativa*, *Lactuca scariola* L. var. *integrata*, *Lactuca scariola* L. var. *integrifolia*, *Lactuca sativa* subsp. *romana*, *Locusta communis*, *Valeriana locusta* [Salat], *Tagetes lucida*, *Tagetes erecta* oder *Tagetes tenuifolia* [Studentenblume], Apiaceae wie die Gattung *Daucus* z.B. die Gattung und Art *Daucus carota* [Karotte], Betulaceae wie die Gattung *Corylus* z.B. die Gattungen und Arten *Corylus avellana* oder *Corylus colurna* [Haselnuss], Boraginaceae wie die Gattung *Borago* z.B. die Gattung und Art *Borago officinalis* [Borretsch], Brassicaceae wie die Gattungen *Brassica*, *Camelina*, *Melanosinapis*, *Sinapis*, *Arabidopsis* z.B. die Gattungen und Arten *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [Raps], *Sinapis arvensis*, *Brassica juncea*, *Brassica juncea* var. *juncea*, *Brassica juncea* var. *crispifolia*, *Brassica juncea* var. *foliosa*, *Brassica nigra*, *Brassica sinapioides*, *Camelina sativa*, *Melanosinapis communis* [Senf], *Brassica oleracea* [Futterrübe] oder *Arabidopsis thaliana*, Bromeliaceae wie die Gattungen *Anana*, *Bromelia* (*Ananas*) z.B. die Gattungen und Arten *Anana comosus*, *Ananas ananas* oder *Bromelia comosa* [Ananas], Caricaceae wie die Gattung *Carica* wie die Gattung und Art *Carica papaya* [Papaya], Cannabaceae wie die Gattung *Cannabis* wie die Gattung und Art *Cannabis sativa* [Hanf], Convolvulaceae wie die Gattungen *Ipomoea*, *Convolvulus* z.B. die Gattungen und Arten *Ipomoea batatas*, *Ipomoea pandurata*, *Convolvulus batatas*, *Convolvulus tiliaceus*, *Ipomoea fastigiata*, *Ipomoea tiliacea*, *Ipomoea triloba* oder

- Convolvulus panduratus* [Süßkartoffel, Batate], Chenopodiaceae wie die Gattung *Beta* wie die Gattungen und Arten *Beta vulgaris*, *Beta vulgaris* var. *altissima*, *Beta vulgaris* var. *Vulgaris*, *Beta maritima*, *Beta vulgaris* var. *perennis*, *Beta vulgaris* var. *conditiva* oder *Beta vulgaris* var. *esculenta* [Zuckerrübe], Cryptecodiniaceae wie die Gattung
- 5 Cryptecodinium z.B. die Gattung und Art *Cryptecodinium cohnii*, Cucurbitaceae wie die Gattung *Cucubita* z.B. die Gattungen und Arten *Cucurbita maxima*, *Cucurbita mixta*, *Cucurbita pepo* oder *Cucurbita moschata* [Kürbis], Cymbellaceae wie die Gattungen *Amphora*, *Cymbella*, *Okedenia*, *Phaeodactylum*, *Reimeria* z.B. die Gattung und Art *Phaeodactylum tricornutum*, Ditrichaceae wie die Gattungen *Ditrichaceae*,
- 10 *Astomiopsis*, *Ceratodon*, *Chrysoblastella*, *Ditrichum*, *Distichium*, *Eccremidium*, *Lophidion*, *Philibertiella*, *Pleuridium*, *Saelania*, *Trichodon*, *Skottsbergia* z.B. die Gattungen und Arten *Ceratodon antarcticus*, *Ceratodon columbiae*, *Ceratodon heterophyllus*, *Ceratodon purpurascens*, *Ceratodon purpureus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *convolutus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *stenocarpus*, *Ceratodon purpureus* var. *rotundifolius*, *Ceratodon ratodon*, *Ceratodon stenocarpus*, *Chrysoblastella chilensis*,
- 15 *Ditrichum ambiguum*, *Ditrichum brevisetum*, *Ditrichum crispatisimum*, *Ditrichum difficile*, *Ditrichum falcifolium*, *Ditrichum flexicaule*, *Ditrichum giganteum*, *Ditrichum heteromallum*, *Ditrichum lineare*, *Ditrichum lineare*, *Ditrichum montanum*, *Ditrichum montanum*, *Ditrichum pallidum*, *Ditrichum punctulatum*, *Ditrichum pusillum*, *Ditrichum pusillum* var. *tortile*, *Ditrichum rhynchostegium*, *Ditrichum schimperi*, *Ditrichum tortile*, *Distichium capillaceum*, *Distichium hagenii*, *Distichium inclinatum*, *Distichium macounii*, *Eccremidium floridanum*, *Eccremidium whiteleggei*, *Lophidion strictus*, *Pleuridium acuminatum*, *Pleuridium alternifolium*, *Pleuridium holdridgei*, *Pleuridium mexicanum*, *Pleuridium ravenelii*, *Pleuridium subulatum*, *Saelania glaucescens*, *Trichodon borealis*,
- 20 *Trichodon cylindricus* oder *Trichodon cylindricus* var. *oblongus*, Elaeagnaceae wie die Gattung *Elaeagnus* z.B. die Gattung und Art *Olea europaea* [Olive], Ericaceae wie die Gattung *Kalmia* z.B. die Gattungen und Arten *Kalmia latifolia*, *Kalmia angustifolia*, *Kalmia microphylla*, *Kalmia polifolia*, *Kalmia occidentalis*, *Cistus chamaerhodendros* oder *Kalmia lucida* [Berglorbeer], Euglenaceae wie die Gattungen *Ascoglena*, *Astasia*,
- 30 *Colacium*, *Cyclidiopsis*, *Euglena*, *Euglenopsis*, *Hyalaphacus*, *Khawkinea*, *Lepocinclis*, *Phacus*, *Strombomonas*, *Trachelomonas* z.B. die Gattung und Art *Euglena gracilis*; Euphorbiaceae wie die Gattungen *Manihot*, *Janipha*, *Jatropha*, *Ricinus* z.B. die Gattungen und Arten *Manihot utilissima*, *Janipha manihot*, *Jatropha manihot*, *Manihot aipil*, *Manihot dulcis*, *Manihot manihot*, *Manihot melanobasis*, *Manihot esculenta* [Manihot] oder *Ricinus communis* [Rizinus], Fabaceae wie die Gattungen *Pisum*, *Albizia*, *Cathormion*, *Feuillea*, *Inga*, *Pithecolobium*, *Acacia*, *Mimosa*, *Medicago*, *Glycine*, *Dolichos*, *Phaseolus*, *Soja* z.B. die Gattungen und Arten *Pisum sativum*, *Pisum arvense*, *Pisum humile* [Erbse], *Albizia berteriana*, *Albizia julibrissin*, *Albizia lebbeck*, *Acacia berteriana*, *Acacia littoralis*, *Albizia berteriana*, *Albizia berteriana*, *Cathormion berteriana*, *Feuillea berteriana*, *Inga fragrans*, *Pithecolobium berterianum*, *Pithecolobium fragrans*, *Pithecolobium berterianum*, *Pseudalbizia berteriana*, *Acacia julibrissin*, *Acacia nemu*, *Albizia nemu*, *Feuillea julibrissin*, *Mimosa julibrissin*, *Mimosa speciosa*, *Sericanrda julibrissin*, *Acacia lebbeck*, *Acacia macrophylla*, *Albizia lebbeck*, *Feuillea lebbeck*, *Mimosa lebbeck*, *Mimosa speciosa* [Seidenbaum], *Medicago sativa*, *Medicago*
- 45 *falcata*, *Medicago varia* [Alfalfa] *Glycine max* *Dolichos soja*, *Glycine gracilis*, *Glycine*

- hispida*, *Phaseolus max*, *Soja hispida* oder *Soja max* [Sojabohne], Funariaceae wie die Gattungen *Aphanorrhagma*, *Entosthodon*, *Funaria*, *Physcomitrella*, *Physcomitrium* z.B. die Gattungen und Arten *Aphanorrhagma serratum*, *Entosthodon attenuatus*, *Entosthodon bolanderi*, *Entosthodon bonplandii*, *Entosthodon californicus*, *Entosthodon drummondii*, *Entosthodon jamesonii*, *Entosthodon leibergii*, *Entosthodon neoscoticus*, *Entosthodon rubrissetus*, *Entosthodon spathulifolius*, *Entosthodon tucsoni*, *Funaria americana*, *Funaria bolanderi*, *Funaria calcarea*, *Funaria californica*, *Funaria calvescens*, *Funaria convoluta*, *Funaria flavicans*, *Funaria groutiana*, *Funaria hygrometrica*, *Funaria hygrometrica* var. *arctica*, *Funaria hygrometrica* var. *calvescens*, *Funaria hygrometrica* var. *convoluta*, *Funaria hygrometrica* var. *muralis*, *Funaria hygrometrica* var. *utahensis*, *Funaria microstoma*, *Funaria microstoma* var. *obtusifolia*, *Funaria muhlenbergii*, *Funaria orcuttii*, *Funaria plano-convexa*, *Funaria polaris*, *Funaria ravenelii*, *Funaria rubriseta*, *Funaria serrata*, *Funaria sonora*, *Funaria sublimbatus*, *Funaria tucsoni*, *Physcomitrella californica*, *Physcomitrella patens*, *Physcomitrella readeri*, *Physcomitrium australe*, *Physcomitrium californicum*, *Physcomitrium collenchymatum*, *Physcomitrium coloradense*, *Physcomitrium cupuliferum*, *Physcomitrium drummondii*, *Physcomitrium eurytostomum*, *Physcomitrium flexifolium*, *Physcomitrium hookeri*, *Physcomitrium hookeri* var. *serratum*, *Physcomitrium immersum*, *Physcomitrium kellermanii*, *Physcomitrium megalocarpum*, *Physcomitrium pyriforme*, *Physcomitrium pyriforme* var. *serratum*, *Physcomitrium rufipes*, *Physcomitrium sandbergii*, *Physcomitrium subsphaericum*, *Physcomitrium washingtoniense*, Geraniaceae wie die Gattungen *Pelargonium*, *Cocos*, *Oleum* z.B. die Gattungen und Arten *Cocos nucifera*, *Pelargonium grossularioides* oder *Oleum cocois* [Kokusnuss], Gramineae wie die Gattung *Saccharum* z.B. die Gattung und Art *Saccharum officinarum*, Juglandaceae wie die Gattungen *Juglans*, *Wallia* z.B. die Gattungen und Arten *Juglans regia*, *Juglans ailanthifolia*, *Juglans sieboldiana*, *Juglans cinerea*, *Wallia cinerea*, *Juglans bixbyi*, *Juglans californica*, *Juglans hindsii*, *Juglans intermedia*, *Juglans jamaicensis*, *Juglans major*, *Juglans microcarpa*, *Juglans nigra* oder *Wallia nigra* [Walnuss], Lauraceae Wie die Gattungen *Persea*, *Laurus* z.B. die Gattungen und Arten *Laurus nobilis* [Lorbeer], *Persea americana*, *Persea gratissima* oder *Persea persea* [Avocado], Leguminosae wie die Gattung *Arachis* z.B. die Gattung und Art *Arachis hypogaea* [Erdnuss], Linaceae wie die Gattungen *Linum*, *Adenolinum* z.B. die Gattungen und Arten *Linum usitatissimum*, *Linum humile*, *Linum austriacum*, *Linum bienne*, *Linum angustifolium*, *Linum catharticum*, *Linum flavum*, *Linum grandiflorum*, *Adenolinum grandiflorum*, *Linum lewisii*, *Linum narbonense*, *Linum perenne*, *Linum perenne* var. *lewisii*, *Linum pratense* oder *Linum trigynum* [Lein], Lythraeae wie die Gattung *Punica* z.B. die Gattung und Art *Punica granatum* [Granatapfel], Malvaceae wie die Gattung *Gossypium* z.B. die Gattungen und Arten *Gossypium hirsutum*, *Gossypium arboreum*, *Gossypium barbadense*, *Gossypium herbaceum* oder *Gossypium thurberi* [Baumwolle], Marchantiaceae wie die Gattung *Marchantia* z.B. die Gattungen und Arten *Marchantia berteroana*, *Marchantia foliacea*, *Marchantia macropora*, Musaceae wie die Gattung *Musa* z.B. die Gattungen und Arten *Musa nana*, *Musa acuminata*, *Musa paradisiaca*, *Musa* spp. [Banane], Onagraceae wie die Gattungen *Camissonia*, *Oenothera* z.B. die Gattungen und Arten *Oenothera biennis* oder *Camissonia brevipes* [Nachtkerze], Palmae wie die Gattung *Elacis* z.B. die Gattung und Art *Elaeis guineensis* [Ölpalme],

- Papaveraceae wie die Gattung *Papaver* z.B. die Gattungen und Arten *Papaver orientale*, *Papaver rhoeas*, *Papaver dubium* [Mohn], Pedaliaceae wie die Gattung *Sesamum* z.B. die Gattung und Art *Sesamum indicum* [Sesam], Piperaceae wie die Gattungen *Piper*, *Artanthe*, *Peperomia*, *Steffensia* z.B. die Gattungen und Arten *Piper* 5
aduncum, *Piper amalago*, *Piper angustifolium*, *Piper auritum*, *Piper betel*, *Piper cubeba*, *Piper longum*, *Piper nigrum*, *Piper retrofractum*, *Artanthe adunca*, *Artanthe elongata*, *Peperomia elongata*, *Piper elongatum*, *Steffensia elongata*. [Cayennepfeffer], Poaceae wie die Gattungen *Hordeum*, *Secale*, *Avena*, *Sorghum*, *Andropogon*, *Holcus*, 10
Panicum, *Oryza*, *Zea* (Mais), *Triticum* z.B. die Gattungen und Arten *Hordeum vulgare*, *Hordeum jubatum*, *Hordeum murinum*, *Hordeum secalinum*, *Hordeum distichon*, *Hordeum aegiceras*, *Hordeum hexastichon*, *Hordeum hexastichum*, *Hordeum irregulare*, *Hordeum sativum*, *Hordeum secalinum* [Gerste], *Secale cereale* [Roggen], *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida* [Hafer], *Sorghum bicolor*, *Sorghum halepense*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum* 15
vulgare, *Andropogon drummondii*, *Holcus bicolor*, *Holcus sorghum*, *Sorghum aethiopicum*, *Sorghum arundinaceum*, *Sorghum caffrorum*, *Sorghum cernuum*, *Sorghum dochna*, *Sorghum drummondii*, *Sorghum durra*, *Sorghum guineense*, *Sorghum lanceolatum*, *Sorghum nervosum*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum subglabrescens*, *Sorghum verticilliflorum*, *Sorghum vulgare*, *Holcus halepensis*, *Sorghum miliaceum*, 20
Panicum miliaceum [Hirse], *Oryza sativa*, *Oryza latifolia* [Reis], *Zea mays* [Mais] *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum* oder *Triticum vulgare* [Weizen], Porphyridiaceae wie die Gattungen *Chrootheca*, *Flintiella*, *Petrovanella*, *Porphyridium*, *Rhodella*, *Rhodorus*, *Vanhoeffenia* z.B. die Gattung und Art *Porphyridium cruentum*, Proteaceae wie die 25
Gattung *Macadamia* z.B. die Gattung und Art *Macadamia integrifolia* [Macadamia], Prasinophyceae wie die Gattungen *Nephroselmis*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus* z.B. die Gattungen und Arten *Nephroselmis olivacea*, *Prasinococcus capsulatus*, *Scherffelia dubia*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis suecica*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus tauri*, Rubiaceae wie die Gattung *Coffea* 30
z.B. die Gattungen und Arten *Coffea* spp., *Coffea arabica*, *Coffea canephora* oder *Coffea liberica* [Kaffee], Scrophulariaceae wie die Gattung *Verbascum* z.B. die Gattungen und Arten *Verbascum blattaria*, *Verbascum chaixii*, *Verbascum densiflorum*, *Verbascum lagurus*, *Verbascum longifolium*, *Verbascum lychnitis*, *Verbascum nigrum*, *Verbascum olympicum*, *Verbascum phlomoides*, *Verbascum phoenicum*, *Verbascum pulverulentum* oder *Verbascum thapsus* [Königskerze], Solanaceae wie die Gattungen 35
Capsicum, *Nicotiana*, *Solanum*, *Lycopersicon* z.B. die Gattungen und Arten *Capsicum annuum*, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, *Capsicum frutescens* [Pfeffer], *Capsicum annuum* [Paprika], *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana alata*, *Nicotiana attenuata*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana langsdorffii*, *Nicotiana obtusifolia*, *Nicotiana quadrivalvis*, 40
Nicotiana repanda, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana sylvestris* [Tabak], *Solanum tuberosum* [Kartoffel], *Solanum melongena* [Aubergine] *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*, *Solanum integrifolium* oder *Solanum lycopersicum* [Tomate], Sterculiaceae wie die Gattung *Theobroma* z.B. die Gattung und Art *Theobroma cacao* [Kakao] oder Theaceae wie die Gattung *Camellia* z.B. die Gattung 45
und Art *Camellia sinensis* [Tee].

Vorteilhafte Mikroorganismen sind beispielweise Pilze ausgewählt aus der Gruppe der Familien Chaetomiaceae, Choanephoraceae, Cryptococcaceae, Cunninghamellaceae, Dematiaceae, Moniliaceae, Mortierellaceae, Mucoraceae, Pythiaceae, Saccharomycetaceae, Saprolegniaceae, Schizosaccharomycetaceae, Sodariaceae oder Tuberculariaceae.

Beispielhaft seien die folgenden Mikroorganismen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Choanephoraceae wie den Gattungen *Blakeslea*, *Choanephora* z.B. die Gattungen und Arten *Blakeslea trispora*, *Choanephora cucurbitarum*, *Choanephora infundibulifera* var. *cucurbitarum*, Mortierellaceae wie der Gattung *Mortierella* z.B. die Gattungen und Arten *Mortierella isabellina*, *Mortierella polycephala*, *Mortierella ramanniana*, *Mortierella vinacea*, *Mortierella zonata*, Pythiaceae wie den Gattungen *Phytium*, *Phytophthora* z.B. die Gattungen und Arten *Pythium debaryanum*, *Pythium intermedium*, *Pythium irregulare*, *Pythium megalacanthum*, *Pythium paroecandrum*, *Pythium sylvaticum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora erythroseptica*, *Phytophthora lateralis*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora syringae*, Saccharomycetaceae wie den Gattungen *Hansenula*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Yarrowia* z.B. die Gattungen und Arten *Hansenula anomala*, *Hansenula californica*, *Hansenula canadensis*, *Hansenula capsulata*, *Hansenula ciferrii*, *Hansenula glucozyma*, *Hansenula henricii*, *Hansenula holstii*, *Hansenula minuta*, *Hansenula nonfermentans*, *Hansenula philodendri*, *Hansenula polymorpha*, *Hansenula saturnus*, *Hansenula subpelliculosa*, *Hansenula wickerhamii*, *Hansenula wingei*, *Pichia alcoholophila*, *Pichia angusta*, *Pichia anomala*, *Pichia bisporea*, *Pichia burtonii*, *Pichia canadensis*, *Pichia capsulata*, *Pichia carsonii*, *Pichia cellobiosa*, *Pichia ciferrii*, *Pichia farinosa*, *Pichia fermentans*, *Pichia finlandica*, *Pichia glucozyma*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia haplophila*, *Pichia henricii*, *Pichia holstii*, *Pichia jadinii*, *Pichia lindnerii*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia methanolica*, *Pichia minuta* var. *minuta*, *Pichia minuta* var. *nonfermentans*, *Pichia norvegensis*, *Pichia ohmeri*, *Pichia pastoris*, *Pichia philodendri*, *Pichia pini*, *Pichia polymorpha*, *Pichia quercuum*, *Pichia rhodanensis*, *Pichia sargentensis*, *Pichia stipitis*, *Pichia strasburgensis*, *Pichia subpelliculosa*, *Pichia toletana*, *Pichia trehalophila*, *Pichia vini*, *Pichia xylosa*, *Saccharomyces acetii*, *Saccharomyces bailii*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces bisporeus*, *Saccharomyces capensis*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces drosophilae*, *Saccharomyces elegans*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces fermentati*, *Saccharomyces florentinus*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces hienipiensis*, *Saccharomyces inusitatus*, *Saccharomyces italicus*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces krusei*, *Saccharomyces lactis*, *Saccharomyces marxianus*, *Saccharomyces microellipsoideus*, *Saccharomyces montanus*, *Saccharomyces norbensis*, *Saccharomyces oleaceus*, *Saccharomyces paradoxus*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces pretoriensis*, *Saccharomyces rosei*, *Saccharomyces*

- rouxii, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Yarrowia lipolytica*, Schizosaccharomycetaceae such as the genera *Schizosaccharomyces* e.g. the species *Schizosaccharomyces japonicus* var. *japonicus*, *Schizosaccharomyces japonicus* var. *versatilis*, *Schizosaccharomyces malidevorans*, *Schizosaccharomyces octosporus*,
 5 *Schizosaccharomyces pombe* var. *malidevorans*, *Schizosaccharomyces pombe* var. *pombe*, Thraustochytriaceae such as the genera *Althornia*, *Aplanochytrium*, *Japonochytrium*, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* e.g. the species *Schizochytrium aggregatum*, *Schizochytrium limacinum*, *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium minutum*,
 10 *Schizochytrium octosporum*, *Thraustochytrium aggregatum*, *Thraustochytrium amoeboidum*, *Thraustochytrium antacticum*, *Thraustochytrium arudimentale*, *Thraustochytrium aureum*, *Thraustochytrium benthicola*, *Thraustochytrium globosum*, *Thraustochytrium indicum*, *Thraustochytrium kerguelense*, *Thraustochytrium kinnei*, *Thraustochytrium motivum*, *Thraustochytrium multirudimentale*, *Thraustochytrium pachydermum*, *Thraustochytrium proliferum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium rossii*,
 15 *Thraustochytrium striatum* oder *Thraustochytrium visurgense*.

Weitere vorteilhafte Mikroorganismen sind beispielweise Bakterien ausgewählt aus der Gruppe der Familien Bacillaceae, Enterobacteriaceae oder Rhizobiaceae.

- Beispielhaft seien die folgenden Mikroorganismen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Bacillaceae wie die Gattung *Bacillus* z.B die Gattungen und Arten *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus amylolyticus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus sphaericus* subsp. *fusiformis*, *Bacillus galactophilus*, *Bacillus globisporus*, *Bacillus globisporus* subsp. *marinus*, *Bacillus halophilus*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa*,
 20 *Bacillus psychrosaccharolyticus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*, *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* oder *Bacillus thuringiensis*; Enterobacteriaceae wie die Gattungen *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* oder *Serratia* z.B die Gattungen und Arten *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter genomospecies*, *Citrobacter gillenii*, *Citrobacter intermedium*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter murlinae*, *Citrobacter* sp., *Edwardsiella hoshinae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda*, *Erwinia alni*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia ananatis*, *Erwinia aphidicola*, *Erwinia billingiae*, *Erwinia cacticida*, *Erwinia cancerogena*, *Erwinia carnegieana*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *betavascularum*, *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera*, *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia cypripedii*, *Erwinia dissolvens*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia mallotivora*,
 25 *Erwinia milletiae*, *Erwinia nigrifluens*, *Erwinia nimipressuralis*, *Erwinia persicina*, *Erwinia psidii*, *Erwinia pyrifoliae*, *Erwinia quercina*, *Erwinia rhapontici*, *Erwinia rubrifaciens*, *Erwinia salicis*, *Erwinia stewartii*, *Erwinia tracheiphila*, *Erwinia uredovora*, *Escherichia adacarboxylata*, *Escherichia anindolica*, *Escherichia aurescens*, *Escherichia blattae*,
 30 *Escherichia coli*, *Escherichia coli* var. *communior*, *Escherichia coli-mutabile*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia* sp., *Escherichia vulneris*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella edwardsii* subsp. *atlantae*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella*
 35
 40

- oxytoca, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Klebsiella* sp., *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella trevisanii*, *Salmonella abony*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *arizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *diarizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *houtenae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *indica*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *salamae*, *Salmonella daressalaam*, *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*, *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella heidelberg*, *Salmonella panama*, *Salmonella senftenberg*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia entomophila*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, *Serratia grimesii*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Serratia marcescens* subsp. *marcescens*, *Serratia marinorubra*, *Serratia odorifera*, *Serratia plymuthensis*, *Serratia plymuthica*, *Serratia proteamaculans*, *Serratia proteamaculans* subsp. *quinovora*, *Serratia quinovora* oder *Serratia rubidaea*; Rhizobiaceae wie die Gattungen *Agrobacterium*, *Carbophilus*, *Chelatobacter*, *Ensifer*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* z.B. die Gattungen und Arten *Agrobacterium atlanticum*, *Agrobacterium ferrugineum*, *Agrobacterium gelatinovorum*, *Agrobacterium larrymoorei*, *Agrobacterium meteor*, *Agrobacterium radiobacter*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Agrobacterium rubi*, *Agrobacterium stellulatum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Carbophilus carboxidus*, *Chelatobacter heintzii*, *Ensifer adhaerens*, *Ensifer arboris*, *Ensifer fredii*, *Ensifer kostiensis*, *Ensifer kummerowiae*, *Ensifer medicae*, *Ensifer meliloti*, *Ensifer sahelii*, *Ensifer teranga*, *Ensifer xinjiangensis*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium fredii*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium hainanense*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium japonicum*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium loti*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium mediterraneum*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium phaseoli*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes*, *Rhizobium rubi*, *Rhizobium sullae*, *Rhizobium tianshanense*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium vitis*, *Sinorhizobium adhaerens*, *Sinorhizobium arboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium kostiense*, *Sinorhizobium kummerowiae*, *Sinorhizobium medicae*, *Sinorhizobium meliloti*, *Sinorhizobium morelense*, *Sinorhizobium sahelii* oder *Sinorhizobium xinjiangense*.

- Weitere vorteilhafte Mikroorganismen für das erfindungsgemäße Verfahren sind beispielweise Protisten oder Diatomeen ausgewählt aus der Gruppe der Familien *Dinophyceae*, *Turaniellidae* oder *Oxytrichidae* wie die Gattungen und Arten: *Cryptocodium cohnii*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Stylonychia mytilus*, *Stylonychia pustulata*, *Stylonychia putrina*, *Stylonychia notophora*, *Stylonychia* sp., *Colpidium campylum* oder *Colpidium* sp.

- Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren transgene Organismen wie Pilze wie *Mortierella* oder *Traustochytrium*, Hefen wie *Saccharomyces* oder *Schizosaccharomyces*, Moose wie *Physcomitrella* oder *Ceratodon*, nicht-humane Tiere wie *Caenorhabditis*, Algen wie *Nephroselmis*, *Pseudoscurfielda*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Cryptocodium* oder *Phaeo-*

dactylum oder Pflanzen wie zweikeimblättrige oder einkeimblättrige Pflanzen verwendet. Besonders vorteilhaft werden Organismen im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet, die zu den Öl-produzierenden Organismen gehören, das heißt die für die Herstellung von Ölen verwendet werden, wie Pilze wie *Mortierella* oder *Thraustochytrium*, Algen wie *Nephroselmis*, *Pseudoscurfielda*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Crypthecodinium*, *Phaeodactylum* oder Pflanzen, insbesondere Pflanzen bevorzugt Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Saflor (*Carthamus tinctoria*), Mohn, Senf, Hanf, Rizinus, Olive, Sesam, Calendula, Punica, Nachtkerze, Königskerze, Distel, Wildrosen, Haselnuss, Mandel, Macadamia, Avocado, Lorbeer, Kürbis, Lein, Soja, Pistazien, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss oder Walnuss) oder Feldfrüchte, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa oder Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), *Salix*-Arten sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfruchtpflanzen, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Saflor, Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Calendula, Punica, Nachtkerze, Kürbis, Lein, Soja, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss). Besonders bevorzugt sind C18:2- und/oder C18:3-Fettsäure reiche Pflanzen wie Sonnenblume, Färberdistel, Tabak, Königskerze, Sesam, Baumwolle, Kürbis, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein, Hanf, Distel oder Färberdistel. Ganz besonders bevorzugt sind Pflanzen wie Färberdistel, Sonnenblume, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein oder Hanf.

Für das erfindungsgemäße beschriebene Verfahren ist es vorteilhaft in den Organismus zusätzlich zu den unter Verfahrensschritt (a) bis (d) eingebrachten Nukleinsäuren sowie den ggf. eingebrachten Nukleinsäuresequenzen, die für die ω -3-Desaturasen codieren, zusätzlich weitere Nukleinsäuren einzubringen, die für Enzyme des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren.

Im Prinzip können alle Gene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels vorteilhaft in Kombination mit der(den) erfinderischen Δ -5-Elongase(n), Δ -6-Elongase(n) und/oder ω -3-Desaturase(n) [im Sinne dieser Anmeldung soll der Plural den Singular und umgekehrt beinhalten] im Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren verwendet werden vorteilhaft werden Gene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen, Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) in Kombination mit der Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase verwendet. Besonders bevorzugt werden Gene ausgewählt aus der Gruppe der Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -9-Desaturasen, Δ -12-Desaturasen, Δ -6-Elongasen oder Δ -9-Elongasen in Kombination mit den vorgenann-

ten Genen für die Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase verwendet, wobei einzelne Gene oder mehrere Gene in Kombination verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen Δ -5-Elongasen haben gegenüber den humanen Elongasen oder Elongasen aus nicht-humanen Tieren wie denen aus *Oncorhynchus*, *Xenopus* oder *Ciona* die vorteilhafte Eigenschaft, dass sie C_{22} -Fettsäuren nicht zu den entsprechenden C_{24} -Fettsäuren elongieren. Weiterhin setzen sie vorteilhaft keine Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ -6-Position um, wie sie von den humanen Elongasen oder den Elongasen aus nicht-humanen Tieren umgesetzt werden. Besonders vorteilhafte Δ -5-Elongasen setzen bevorzugt nur ungesättigte C_{20} -Fettsäuren um. Diese vorteilhaften Δ -5-Elongasen weisen einige putative Transmembran-Helices (5 – 7) auf. Vorteilhaft werden nur C_{20} -Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ -5-Position umgesetzt, wobei ω -3- C_{20} Fettsäuren bevorzugt werden (EPA). Weiterhin haben sie in einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung die Eigenschaft, dass sie neben der Δ -5-Elongaseaktivität vorteilhaft keine oder nur eine relativ geringe Δ -6-Elongaseaktivität aufweisen. Im Gegensatz dazu weisen die humanen Elongasen oder nicht-humanen Tier-Elongasen eine annähernd gleiche Aktivität gegenüber Fettsäuren mit einer Δ -6- oder Δ -5-Doppelbindung auf. Diese vorteilhaften Elongasen werden als sogenannte monofunktionelle Elongasen bezeichnet. Die humanen Elongasen oder die nicht-humanen Tierelongasen werden dem gegenüber als multifunktionelle Elongasen bezeichnet, die neben den vorgenannten Substraten auch monounsättigte C_{16} - und C_{18} -Fettsäuren beispielsweise mit Δ -9- oder Δ -11-Doppelbindung umsetzen. Vorteilhaft setzen die monofunktionellen Elongasen in einem Hefefütterungstext, in dem als Substrat EPA den Hefen zugesetzt wurde, mindestens 15 Gew.-% des zugesetzten EPAs zu Docosapentaensäure (DPA, $C_{22:5}^{\Delta 7,10,13,16,19}$), vorteilhaft mindestens 20 Gew.-%, besonders vorteilhaft mindestens 25 Gew.-% um. Wird als Substrat γ -Linolensäure (= GLA, $C_{18:3}^{\Delta 6,9,12}$) gegeben, so wird diese vorteilhaft gar nicht elongiert. Ebenfalls wird auch $C_{18:3}^{\Delta 5,9,12}$ nicht elongiert. In einer anderen vorteilhaften Ausführungsform werden weniger als 60 Gew.-% des zugesetzten GLA zu Dihomo- γ -linolensäure (= $C_{20:3}^{\Delta 8,11,14}$) umgesetzt, vorteilhaft weniger als 55 Gew.-%, bevorzugt weniger als 50 Gew.-%, besonders vorteilhaft weniger als 45 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft weniger als 40 Gew.-%. In einer weiteren ganz bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Δ -5-Elongaseaktivität wird GLA nicht umgesetzt.

Die Figuren 27 und 28 geben die gemessenen Substratspezifitäten der verschiedenen Elongasen wieder. In Figur 27 sind die Spezifitäten der multifunktionellen Elongasen von *Xenopus laevis* (Fig. 27 A), *Ciona intestinalis* (Fig. 27 B) und *Oncorhynchus mykiss* (Fig. 27 C) wiedergegeben. Alle diese Elongasen setzen ein breites Spektrum an Substraten um. Dies kann im erfindungsgemäßen Verfahren zu Nebenprodukten führen, die durch weitere enzymatische Aktivitäten umgesetzt werden müssen. Diese Enzyme sind deshalb im erfindungsgemäßen Verfahren weniger bevorzugt. Die bevorzugten monofunktionellen Elongasen und ihre Substratspezifität werden in Figur 28 wiedergegeben. Figur 28 A zeigt die Spezifität der *Ostreococcus tauri* Δ -5-Elongase. Dies setzt nur Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ -5-Position um. Vorteilhaft werden nur C_{20} -Fettsäuren umgesetzt. Eine ähnlich hohe Substratspezifität

weist die Δ -5-Elongase von *Thalassiosira pseudonana* (Fig. 28. C) auf. Sowohl die Δ -6-Elongase von *Ostreococcus tauri* (Fig. 28 B) als auch die von *Thalassiosira pseudonana* (Fig. 28 D) setzen vorteilhaft nur Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ -6-Position um. Vorteilhaft werden nur C18-Fettsäuren umgesetzt.

- 5 Die erfindungsgemäße ω -3-Desaturase hat gegenüber den bekannten ω -3-Desaturase die vorteilhafte Eigenschaft, dass sie ein breites Spektrum an ω -6-Fettsäuren desaturieren kann, bevorzugt werden C₂₀- und C₂₂-Fettsäuren wie C_{20:2}⁻, C_{20:3}⁻, C_{20:4}⁻, C_{22:4}⁻ oder C_{22:5}-Fettsäuren desaturiert. Aber auch die kürzeren C₁₈-Fettsäuren wie C_{18:2}⁻ oder C_{18:3}-Fettsäuren werden vorteilhaft desaturiert. Durch diese Eigenschaften der ω -3-Desaturase ist es vorteilhaft möglich das Fettsäurespektrum innerhalb eines Organismus vorteilhaft innerhalb einer Pflanze oder einem Pilz von den ω -6-Fettsäuren zu den ω -3-Fettsäuren hin zu verschieben. Bevorzugt werden von der erfindungsgemäßen ω -3-Desaturase C₂₀-Fettsäuren desaturiert. Innerhalb des Organismus werden diese Fettsäuren aus dem vorhandenen Fettsäurepool zu mindestens 10%, 15%, 20%, 25% oder 30% zu den entsprechenden ω -3-Fettsäuren umgesetzt. Gegenüber den C₁₈-Fettsäuren weist die ω -3-Desaturase eine um den Faktor 10 geringere Aktivität auf, das heißt es werden nur ca. 1,5 bis 3% der im Fettsäurepool vorhandenen Fettsäuren zu den entsprechenden ω -3-Fettsäuren umgesetzt. Bevorzugtes Substrat der erfindungsgemäßen ω -3-Desaturase sind die in Phospholipiden gebundenen ω -6-Fettsäuren. Figur 19 zeigt deutlich am Beispiel der Desaturierung von Dihomo- γ -linolensäure [C_{20:4} ^{Δ 8,11,14}], dass die ω -3-Desaturase bei der Desaturierung vorteilhaft nicht zwischen an sn1- oder sn2-Position gebundenen Fettsäuren unterscheidet. Sowohl an sn1- oder sn2-Position in den Phospholipide gebundene Fettsäuren werden desaturiert. Weiterhin ist vorteilhaft, dass die ω -3-Desaturase eine breite Palette von Phospholipiden wie Phosphatidylcholin (= PC), Phosphatidylinositol (= PIS) oder Phosphatidylethanolamin (= PE) umsetzt. Schließlich lassen sich auch Desaturierungsprodukte in den Neutrallipiden (= NL), das heißt in den Triglyceriden finden.

Die erfindungsgemäßen Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen und Δ -6-Desaturasen haben gegenüber den bekannten Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen und Δ -6-Desaturasen den Vorteil, dass sie Fettsäuren gebunden an Phospholipide oder CoA-Fettsäureester, vorteilhaft CoA-Fettsäureester umsetzen können.

Vorteilhaft setzen die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Δ -12-Desaturasen Ölsäure (C_{18:1} ^{Δ 9}) zu Linolsäure (C_{18:2} ^{Δ 9,12}) oder C_{18:2} ^{Δ 6,9} zu C_{18:3} ^{Δ 6,9,12} (= GLA) um. Vorteilhaft setzen die verwendeten Δ -12-Desaturasen Fettsäuren gebunden an Phospholipide oder CoA-Fettsäureester, vorteilhaft gebunden an CoA-Fettsäureester um.

Durch die enzymatische Aktivität der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder ω -3-Desaturaseaktivität codieren, vorteilhaft in Kombination mit Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels wie weiteren Polypeptiden mit Δ -4-, Δ -5-, Δ -6-, Δ -8-, Δ -12-Desaturase- oder Δ -5-, Δ -6- oder Δ -9-

Elongaseaktivität codieren, können unterschiedlichste mehrfach ungesättigte Fettsäuren im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt werden. Je nach Auswahl der für das erfindungsgemäße Verfahren verwendeten Organismen wie den vorteilhaften Pflanze lassen sich Mischungen der verschiedenen mehrfach ungesättigten Fettsäuren oder
5 einzelne mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie EPA oder ARA in freier oder gebundener Form herstellen. Je nachdem welche Fettsäurezusammensetzung in der Ausgangspflanze vorherrscht (C18:2- oder C18:3-Fettsäuren) entstehen so Fettsäuren, die sich von C18:2-Fettsäuren ableiten, wie GLA, DGLA oder ARA oder, die sich von C18:3-Fettsäuren ableiten, wie SDA, ETA oder EPA. Liegt in der für das Verfahren
10 verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur Linolsäure (= LA, C18:2^{Δ^{9,12}}) vor, so können als Produkte des Verfahrens nur GLA, DGLA und ARA entstehen, die als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Ist in der im Verfahren verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur α-Linolensäure (= ALA, C18:3^{Δ^{9,12,15}}) beispielsweise wie in Lein, so können als Produkte des Verfahrens nur SDA, ETA, EPA
15 und/oder DHA entstehen, die wie oben beschrieben als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Durch Modifikation der Aktivität des an der Synthese beteiligten Enzyms Δ-5-Elongase vorteilhaft in Kombination mit der Δ-4-, Δ-5-, Δ-6-, Δ-12-Desaturase und/oder Δ-6-Elongase, oder der Δ-4-, Δ-5-, Δ-8-, Δ-12-Desaturase, und/oder Δ-9-Elongase lassen sich gezielt in den vorgenannten Organismen vorteilhaft in den vorgenannten Pflanzen nur einzelne Produkte herstellen. Durch die
20 Aktivität der Δ-6-Desaturase und Δ-6-Elongase entstehen beispielsweise GLA und DGLA bzw. SDA und ETA, je nach Ausgangspflanze und ungesättigter Fettsäure. Bevorzugt entstehen DGLA bzw. ETA oder deren Mischungen. Werden die Δ-5-Desaturase, die Δ-5-Elongase und die Δ-4-Desaturase zusätzlich in die Organismen vorteilhaft in die Pflanze eingebracht, so entstehen zusätzlich ARA, EPA und/oder DHA. Dies gilt auch für Organismen in die vorher die Δ-8-Desaturase und Δ-9-Elongase eingebracht wurde. Vorteilhaft werden nur ARA, EPA oder DHA oder deren Mischungen synthetisiert, abhängig von der in im Organismus bzw. in der Pflanze vorliegenden Fettsäure, die als Ausgangssubstanz für die Synthese dient. Da es sich
30 um Biosyntheseketten handelt, liegen die jeweiligen Endprodukte nicht als Reinsubstanzen in den Organismen vor. Es sind immer auch geringe Mengen der Vorläuferverbindungen im Endprodukt enthalten. Diese geringen Mengen betragen weniger als 20 Gew.-%, vorteilhaft weniger als 15 Gew.-%, besonders vorteilhaft weniger als 10 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft weniger als 5, 4, 3, 2 oder 1 Gew.-% bezogen auf das Endprodukt DGLA, ETA oder deren Mischungen bzw. ARA, EPA, DHA oder deren Mischungen vorteilhaft EPA oder DHA oder deren Mischungen.
35

Das von der erfindungsgemäßen Nukleinsäure kodierte Protein zeigt eine hohe Spezifität für die beiden Vorstufen C18:4^{Δ^{6,9,12,15}}- und C20:5^{Δ^{5,8,11,14,17}}-Fettsäuren zur Synthese von DHA (Vorstufen und Synthese von DHA siehe Figur 1). Das von SEQ NO: 53
40 kodierte Protein hat damit eine Spezifität für Δ6- und Δ5-Fettsäuren mit zusätzlich einer ω3-Doppelbindung (Figur 2). Die Δ-5-Elongase hat eine keto-Acyl-CoA-Synthase-Aktivität, die vorteilhaft Fettsäurereste von Acyl-CoA-Estern um 2 Kohlenstoffatome verlängert.

Mittels der Δ -5-Elongase-Gene, der Δ 5-Desaturase aus *Phaeodacylum* sowie der Δ 4-Desaturase aus *Euglena* konnte die Synthese von DHA in Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) nachgewiesen werden (Figur 3).

5 Neben der Produktion der Ausgangsfettsäuren für die erfindungsgemäße Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase direkt im Organismus können die Fettsäuren auch von außen gefüttert werden. Aus Kostengründen ist die Produktion im Organismus bevorzugt. Bevorzugt Substrate der ω -3-Desaturase sind die Linolsäure (C18:2 ^{Δ 9,12}), die γ -Linolensäure (C18:3 ^{Δ 6,9,12}), die Eicosadiensäure (C20:2 ^{Δ 11,14}), die Dihomo- γ -linolensäure (C20:3 ^{Δ 8,11,14}), die Arachidonsäure (C20:4 ^{Δ 5,8,11,14}), die Docosa-
10 tetraensäure (C22:4 ^{Δ 7,10,13,16}) und die Docosapentaensäure (C22:5 ^{Δ 4,7,10,13,15}).

15 Zur Steigerung der Ausbeute im beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triglyceriden mit einem vorteilhaft erhöhten Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist es vorteilhaft die Menge an Ausgangsprodukt für die Fettsäuresynthese zu steigern, dies kann beispielsweise durch das Einbringen einer Nukleinsäure in den Organismus, die für ein Polypeptid mit Δ -12-Desaturase codiert, erreicht werden. Dies ist besonders vorteilhaft in Öl-produzierenden Organismen wie der Familie der Brassicaceae wie der Gattung *Brassica* z.B. Raps; der Familie der Elaeagnaceae wie die Gattung *Elaeagnus* z.B. die Gattung und Art *Olea europaea* oder der Familie Fabaceae wie der Gattung *Glycine* z.B. die Gattung und Art *Glycine max*, die einen
20 hohen Ölsäuregehalt aufweisen. Da diese Organismen nur einen geringen Gehalt an Linolsäure aufweisen (Mikoklajczak et al., Journal of the American Oil Chemical Society, 38, 1961, 678 - 681) ist die Verwendung der genannten Δ -12-Desaturasen zur Herstellung des Ausgangsprodukts Linolsäure vorteilhaft.

25 Im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren stammen vorteilhaft aus Pflanzen wie Algen beispielsweise Algen der Familie der Prasinophyceae wie aus den Gattungen *Heteromastix*, *Mammella*, *Mantoniella*, *Micromonas*, *Nephroselmis*, *Ostreococcus*, *Prasinocladus*, *Prasinococcus*, *Pseudoscourfieldia*, *Pycnococcus*, *Pyramimonas*, *Scherffelia* oder *Tetraselmis* wie den Gattungen und Arten *Heteromastix longifillis*, *Mamiella gilva*, *Mantoniella squamata*, *Micromonas pusilla*, *Nephroselmis olivacea*, *Nephroselmis pyriformis*, *Nephroselmis rotunda*, *Ostreococcus tauri*, *Ostreococcus* sp. *Prasinocladus ascus*, *Prasinocladus lubricus*, *Pycnococcus provasolii*, *Pyramimonas amylifera*, *Pyramimonas disomata*, *Pyramimonas obovata*, *Pyramimonas orientalis*, *Pyramimonas parkeae*, *Pyramimonas spinifera*, *Pyramimonas* sp., *Tetraselmis apiculata*, *Tetraselmis carteriformis*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis convolutae*,
30 *Tetraselmis desikacharyi*, *Tetraselmis gracilis*, *Tetraselmis hazeni*, *Tetraselmis impellucida*, *Tetraselmis inconspicua*, *Tetraselmis levis*, *Tetraselmis maculata*, *Tetraselmis marina*, *Tetraselmis striata*, *Tetraselmis subcordiformis*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrabrachia*, *Tetraselmis tetrathele*, *Tetraselmis verrucosa*, *Tetraselmis verrucosa* fo. *rubens* oder *Tetraselmis* sp. oder aus Algen der Familie
35 *Euglenaceae* wie aus den Gattungen *Ascoglena*, *Astasia*, *Colacium*, *Cyclidiopsis*,
40

30

Euglena, Euglenopsis, Hyalophacus, Khawkinea, Lepocinclis, Phacus, Strombomonas oder Trachelomonas wie die Gattungen und Art *Euglena acus*, *Euglena geniculata*, *Euglena gracilis*, *Euglena mixocylindracea*, *Euglena rostrifera*, *Euglena viridis*, *Colacium stentorium*, *Trachelomonas cylindrica* oder *Trachelomonas volvocina*.

- 5 Vorteilhaft stammen die verwendeten Nukleinsäuren aus Algen der Gattungen *Euglena*, *Mantoniella* oder *Ostreococcus*.

Weitere vorteilhafte Pflanzen sind Algen wie *Isochrysis* oder *Crypthecodinium*, Algen/Diatomeen wie *Thalassiosira*, *Phaeodactylum* oder *Thraustochytrium*, Moose wie *Physcomitrella* oder *Ceratodon* oder höheren Pflanzen wie den *Primulaceae* wie

- 10 *Aleuritia*, *Calendula stellata*, *Osteospermum spinescens* oder *Osteospermum hyoseroides*, Mikroorganismen wie Pilzen wie *Aspergillus*, *Thraustochytrium*, *Phytophthora*, *Entomophthora*, *Mucor* oder *Mortierella*, Bakterien wie *Shewanella*, Hefen oder Tieren wie Nematoden wie *Caenorhabditis*, Insekten, Fröschen, Seegurken oder Fischen.
- 15 Vorteilhaft stammen die erfindungsgemäßen isolierten Nukleinsäuresequenzen aus einem Tier aus der Ordnung der Vertebraten. Bevorzugt stammen die Nukleinsäuresequenzen aus der Klasse der Vertebrata; Euteleostomi, Actinopterygii; Neopterygii; Teleostei; Euteleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes; Salmonidae bzw. *Oncorhynchus* oder Vertebrata, Amphibia, Anura, Pipidae, *Xenopus* oder Evertabrata wie Protochordata, Tunicata, Holothuroidea, Cionidae wie *Amaroucium constellatum*,
- 20 *Botryllus schlosseri*, *Ciona intestinalis*, *Molgula citrina*, *Molgula manhattensis*, *Perophora viridis* oder *Styela partita*. Besonders vorteilhaft stammen die Nukleinsäuren aus Pilzen, Tieren oder aus Pflanzen wie Algen oder Moosen, bevorzugt aus der Ordnung der Salmoniformes wie der Familie der Salmonidae wie der Gattung *Salmo* beispielsweise aus den Gattungen und Arten *Oncorhynchus mykiss*, *Trutta trutta* oder *Salmo trutta fario*, aus Algen wie den Gattungen *Mantoniella* oder *Ostreococcus* oder aus den
- 25 Diatomeen wie den Gattungen *Thalassiosira* oder *Crypthecodinium*.

- Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen oder deren Derivat oder Homologe, die für Polypeptide codieren, die noch die enzymatische Aktivität der durch Nukleinsäuresequenzen codierten Proteine besitzen. Diese Sequenzen werden einzeln oder in Kombination mit den für die Δ -12-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase codierenden Nukleinsäuresequenzen in Expressionskonstrukte cloniert und zum Einbringen und zur Expression in Organismen verwendet. Diese Expressionskonstrukte ermöglichen durch ihre Konstruktion eine
- 30 vorteilhafte optimale Synthese der im erfindungsgemäßen Verfahren produzierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren.
- 35

Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens einer Zelle oder eines ganzen Organismus, der die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen enthält, wobei die Zelle und/oder der Organismus

- mit einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz, die für die Δ -12-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase codiert, einem Genkonstrukt oder einem Vektor wie nachfolgend beschrieben, allein oder in Kombination mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Proteine des Fettsäure- oder Lipidsstoffwechsels codieren, transformiert wird. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst dieses Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens der Öle, Lipide oder freien Fettsäuren aus dem Organismus oder aus der Kultur. Bei der Kultur kann es sich beispielsweise um eine Fermentationskultur beispielsweise im Falle der Kultivierung von Mikroorganismen wie z.B. *Mortierella*, *Thalassiosira*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Saccharomyces* oder *Thraustochytrium* oder um eine Treibhaus oder Feldkultur einer Pflanze handeln. Die so hergestellte Zelle oder der so hergestellte Organismus ist vorteilhaft eine Zelle eines Öl-produzierenden Organismus wie einer Ölfruchtpflanze wie beispielsweise Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Hanf, Erdnuss, Soja, Safflower, Hanf, Sonnenblumen oder Borretsch.
- Unter Anzucht ist beispielsweise die Kultivierung im Falle von Pflanzenzellen, -gewebe oder -organe auf oder in einem Nährmedium oder der ganzen Pflanze auf bzw. in einem Substrat beispielsweise in Hydrokultur, Blumentopferde oder auf einem Ackerboden zu verstehen.
- "Transgen" bzw. "Rekombinant" im Sinne der Erfindung bedeutet bezüglich zum Beispiel einer Nukleinsäuresequenz, einer Expressionskassette (= Genkonstrukt) oder einem Vektor enthaltend die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz oder einem Organismus transformiert mit den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Expressionskassette oder Vektor alle solche durch gentechnische Methoden zustande gekommenen Konstruktionen, in denen sich entweder
- die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz, oder
 - eine mit der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz funktionell verknüpfte genetische Kontrollsequenz, zum Beispiel ein Promotor, oder
 - (a) und (b)
- sich nicht in ihrer natürlichen, genetischen Umgebung befinden oder durch gentechnische Methoden modifiziert wurden, wobei die Modifikation beispielhaft eine Substitution, Addition, Deletion, Inversion oder Insertion eines oder mehrerer Nukleotidreste sein kann. Natürliche genetische Umgebung meint den natürlichen genomischen bzw. chromosomalen Locus in dem Herkunftsorganismus oder das Vorliegen in einer genomischen Bibliothek. Im Fall einer genomischen Bibliothek ist die natürliche, genetische Umgebung der Nukleinsäuresequenz bevorzugt zumindest noch teilweise erhalten. Die Umgebung flankiert die Nukleinsäuresequenz zumindest an einer Seite und hat eine Sequenzlänge von mindestens 50 bp, bevorzugt mindestens 500 bp, besonders bevorzugt mindestens 1000 bp, ganz besonders bevorzugt mindestens 5000 bp. Eine natürlich vorkommende Expressionskassette - beispielsweise die natürlich vorkommende Kombination des natürlichen Promotors der erfindungs-

gemäßen Nukleinsäuresequenzen mit den entsprechenden Δ -12-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder Δ -5-Elongasegenen – wird zu einer transgenen Expressionskassette, wenn diese durch nicht-natürliche, synthetische ("künstliche") Verfahren wie beispielsweise einer Mutagenisierung geändert wird. Entsprechende Verfahren sind beispielsweise beschrieben in US 5,565,350 oder WO 00/15815.

Unter transgenen Organismus bzw. transgener Pflanze im Sinne der Erfindung ist wie vorgenannt zu verstehen, dass die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren nicht an ihrer natürlichen Stelle im Genom eines Organismus sind, dabei können die Nukleinsäuren homolog oder heterolog exprimiert werden. Transgen bedeutet aber auch wie genannt, dass die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an ihrem natürlichen Platz im Genom eines Organismus sind, dass jedoch die Sequenz gegenüber der natürlichen Sequenz verändert wurde und/oder dass die Regulationssequenzen, der natürlichen Sequenzen verändert wurden. Bevorzugt ist unter transgen die Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an nicht natürlicher Stelle im Genom zu verstehen, das heißt eine homologe oder bevorzugt heterologe Expression der Nukleinsäuren liegt vor. Bevorzugte transgene Organismen sind Pilze wie *Mortierella* oder *Phytophthora*, Moose wie *Physcomitrella*, Algen wie *Mantoniella*, *Euglena* oder *Ostreococcus*, Diatomeen wie *Thalassiosira* oder *Cryptocodinium* oder Pflanzen wie die Ölfruchtpflanzen.

Als Organismen bzw. Wirtsorganismen für die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die Expressionskassette oder den Vektor eignen sich prinzipiell vorteilhaft alle Organismen, die in der Lage sind Fettsäuren speziell ungesättigte Fettsäuren zu synthetisieren bzw. für die Expression rekombinanter Gene geeignet sind. Beispielsweise seien Pflanzen wie *Arabidopsis*, *Asteraceae* wie *Calendula* oder Kulturpflanzen wie Soja, Erdnuss, Rizinus, Sonnenblume, Mais, Baumwolle, Flachs, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, FärberSaflor (*Carthamus tinctorius*) oder Kakaobohne, Mikroorganismen wie Pilze beispielsweise die Gattung *Mortierella*, *Thraustochytrium*, *Saprolegnia*, *Phytophthora* oder *Pythium*, Bakterien wie die Gattung *Escherichia* oder *Shewanella*, Hefen wie die Gattung *Saccharomyces*, Cyanobakterien, Ciliaten, Algen wie *Mantoniella*, *Euglena* oder *Ostreococcus* oder Protozoen wie Dinoflagellaten wie *Thalassiosira* oder *Cryptocodinium* genannt. Bevorzugt werden Organismen, die natürlicherweise Öle in größeren Mengen synthetisieren können wie Pilze wie *Mortierella alpina*, *Pythium insidiosum*, *Phytophthora infestans* oder Pflanzen wie Soja, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, FärberSaflor, Flachs, Hanf, Rizinus, *Calendula*, Erdnuss, Kakaobohne oder Sonnenblume oder Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae*, besonders bevorzugt werden Soja, Flachs, Raps, FärberSaflor, Sonnenblume, *Calendula*, *Mortierella* oder *Saccharomyces cerevisiae*. Prinzipiell sind als Wirtsorganismen neben den vorgenannten transgenen Organismen auch transgene Tiere vorteilhaft nicht-humane Tiere geeignet beispielsweise *C. elegans*, *Ciona intestinalis* oder *Xenopus laevis*.

Nutzbare Wirtszellen sind weiterhin genannt in: Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990).

5 Verwendbare Expressionsstämme z.B. solche, die eine geringere Proteaseaktivität aufweisen sind beschrieben in: Gottesman, S., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, California (1990) 119-128.

10 Hierzu gehören Pflanzenzellen und bestimmte Gewebe, Organe und Teile von Pflanzen in all ihren Erscheinungsformen, wie Antheren, Fasern, Wurzelhaare, Stängel, Embryos, Kalli, Kotelydonen, Petiolen, Erntematerial, pflanzliches Gewebe, reproduktives Gewebe und Zellkulturen, das von der eigentlichen transgenen Pflanze abgeleitet ist und/oder dazu verwendet werden kann, die transgene Pflanze hervor-

15 Transgene Pflanzen, die die im erfindungsgemäßen Verfahren synthetisierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren enthalten, können vorteilhaft direkt vermarktet werden ohne dass die synthetisierten Öle, Lipide oder Fettsäuren isoliert werden müssen. Unter Pflanzen im erfindungsgemäßen Verfahren sind ganze Pflanzen sowie alle
20 Pflanzenteile, Pflanzenorgane oder Pflanzenteile wie Blatt, Stiel, Samen, Wurzel, Knollen, Antheren, Fasern, Wurzelhaare, Stängel, Embryos, Kalli, Kotelydonen, Petiolen, Erntematerial, pflanzliches Gewebe, reproduktives Gewebe, Zellkulturen, die sich von der transgenen Pflanze ableiten und/oder dazu verwendet werden können, die transgene Pflanze hervorzubringen. Der Samen umfasst dabei alle Samenteile wie die Samenhüllen, Epidermis- und Samenzellen, Endosperm oder Embryogewebe. Die
25 im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen können aber auch aus den Organismen vorteilhaft Pflanzen in Form ihrer Öle, Fett, Lipide und/oder freien Fettsäuren isoliert werden. Durch dieses Verfahren hergestellte mehrfach ungesättigten Fettsäuren lassen sich durch Ernten der Organismen entweder aus der Kultur, in der sie wachsen, oder vom Feld ernten. Dies kann über Pressen oder Extraktion der Pflanzenteile bevorzugt der Pflanzensamen erfolgen. Dabei können die Öle, Fette, Lipide und/oder freien Fettsäuren durch sogenanntes kalt schlagen oder kalt pressen
30 ohne Zuführung von Wärme durch Pressen gewonnen werden. Damit sich die Pflanzenteile speziell die Samen leichter aufschließen lassen, werden sie vorher zerkleinert, gedämpft oder geröstet. Die so vorbehandelten Samen können anschließend gepresst werden oder mit Lösungsmittel wie warmen Hexan extrahiert werden. Anschließend wird das Lösungsmittel wieder entfernt. Im Falle von Mikroorganismen werden diese nach Ernte beispielsweise direkt ohne weitere Arbeitsschritte extrahiert oder aber nach
35 Aufschluss über verschiedene dem Fachmann bekannte Methoden extrahiert. Auf diese Weise können mehr als 96 % der im Verfahren hergestellten Verbindungen isoliert werden. Anschließend werden die so erhaltenen Produkte weiter bearbeitet, das heißt raffiniert. Dabei werden zunächst beispielsweise die Pflanzenschleime und Trübstoffe entfernt. Die sogenannte Entschleimung kann enzymatisch oder beispielsweise chemisch/physikalisch durch Zugabe von Säure wie Phosphorsäure erfolgen.
40 Anschließend werden die freien Fettsäuren durch Behandlung mit einer Base beispielsweise Natronlauge entfernt. Das erhaltene Produkt wird zur Entfernung der im

Produkt verbliebenen Lauge mit Wasser gründlich gewaschen und getrocknet. Um die noch im Produkt enthaltenen Farbstoffe zu entfernen werden die Produkte einer Bleichung mit beispielsweise Bleicherde oder Aktivkohle unterzogen. Zum Schluss wird das Produkt noch beispielsweise mit Wasserdampf noch desodoriert.

- 5 Vorzugsweise sind die durch dieses Verfahren produzierten PUFAs bzw. LCPUFAs C_{18} -, C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuremoleküle vorteilhaft C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuremoleküle mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen. Diese C_{18} -, C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuremoleküle lassen sich aus dem Organismus in Form eines Öls, Lipids oder einer freien Fettsäure isolieren.
- 10 Geeignete Organismen sind beispielsweise die vorstehend erwähnten. Bevorzugte Organismen sind transgene Pflanzen.

- 15 Eine Ausführungsform der Erfindung sind deshalb Öle, Lipide oder Fettsäuren oder Fraktionen davon, die durch das oben beschriebene Verfahren hergestellt worden sind, besonders bevorzugt Öl, Lipid oder eine Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs umfassen und von transgenen Pflanzen herrühren.

- 20 Diese Öle, Lipide oder Fettsäuren enthalten wie oben beschrieben vorteilhaft 6 bis 15 % Palmitinsäure, 1 bis 6 % Stearinsäure; 7 – 85 % Ölsäure; 0,5 bis 8 % Vaccensäure, 0,1 bis 1 % Arachinsäure, 7 bis 25 % gesättigte Fettsäuren, 8 bis 85 % einfach ungesättigte Fettsäuren und 60 bis 85 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren jeweils bezogen auf 100 % und auf den Gesamtfettsäuregehalt der Organismen. Als vorteilhafte mehrfach ungesättigte Fettsäure sind in den Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische bevorzugt mindestens 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 oder 1 % bezogen auf den Gesamtfettsäuregehalt an Arachidonsäure enthalten. Weiterhin enthalten die Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, vorteilhaft Fettsäuren ausgewählt aus der Gruppe der Fettsäuren
- 25 Erucasäure (13-Docosaensäure), Sterculinsäure (9,10-Methylene octadec-9-enonsäure), Malvalinsäure (8,9-Methylen Heptadec-8-enonsäure), Chaulmoogrinsäure (Cyclopenten-dodecansäure), Furan-Fettsäure (9,12-Epoxy-octadeca-9,11-dienonsäure), Vernonsäure (9,10-Epoxyoctadec-12-enonsäure), Tarinsäure (6-Octadecynonsäure), 6-Nonadecynonsäure, Santalbinsäure (11-Octadecen-9-ynoic acid), 6,9-Octadecenynonsäure, Pyrulinsäure (10-Heptadecen-8-ynonsäure), Crepenyninsäure (9-Octadecen-12-ynonsäure), 13,14-Dihydrooropheinsäure, Octadecen-13-ene-9,11-dynonsäure, Petroselensäure (cis-6-Octadecenonsäure), 9c,12t-Octadecadiensäure, Calendulasäure (8t10t12c-Octadecatriensäure), Catalpinsäure
- 30 (9t11t13c-Octadecatriensäure), Eleosterinsäure (9c11t13t-Octadecatriensäure), Jacarinsäure (8c10t12c-Octadecatriensäure), Punicinsäure (9c11t13c-Octadecatriensäure), Parinarinsäure (9c11t13t15c-Octadecatetraensäure), Pinolensäure (all-cis-5,9,12-Octadecatriensäure), Laballensäure (5,6-Octadecadienallensäure), Ricinolsäure (12-Hydroxyölsäure) und/oder Coriolinsäure (13-Hydroxy-9c,11t-Octadecadienonsäure). Die vorgenannten Fettsäuren kommen in den nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemischen in der Regel vorteilhaft nur in Spuren vor, das heißt sie kommen bezogen auf die
- 35
- 40

Gesamtfettsäuren zu weniger als 30 %, bevorzugt zu weniger als 25 %, 24 %, 23 %, 22 % oder 21 %, besonders bevorzugt zu weniger als 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 % oder 5 %, ganz besonders bevorzugt zu weniger als 4 %, 3 %, 2 % oder 1 % vor. Vorteilhaft enthalten die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten

- 5 Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische weniger als 0,1 % bezogen auf die Gesamtfettsäuren oder keine Butterbuttersäure, kein Cholesterin, keine Clupanodonsäure (= Docosapentaensäure, C22:5^{Δ4,8,12,15,21}) sowie keine Nisinsäure (Tetracosahexaensäure, C23:6^{Δ3,8,12,15,18,21}).

- 10 Vorteilhaft enthalten die erfindungsgemäßen Öle, Lipide oder Fettsäuren mindestens 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% oder 5%, vorteilhaft mindestens 6%, 7%, 8%, 9% oder 10%, besonders vorteilhaft mindestens 11%, 12%, 13%, 14% oder 15% ARA oder mindestens 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% oder 5%, vorteilhaft mindestens 6%, oder 7%, besonders vorteilhaft mindestens 8%, 9% oder 10% EPA und/oder DHA bezogen auf den
- 15 Gesamtfettsäuregehalt des Produktionsorganismus vorteilhaft einer Pflanze, besonders vorteilhaft einer Ölfuchtpflanze wie Soja, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, Färbersafflor, Flachs, Hanf, Rizinus, Calendula, Erdnuss, Kakaobohne, Sonnenblume oder den oben genannten weiteren ein- oder zweikeimblättrigen Ölfuchtpflanzen.

- Eine weitere erfindungsgemäße Ausführungsform ist die Verwendung des Öls, Lipids, der Fettsäuren und/oder der Fettsäurezusammensetzung in Futtermitteln, Nahrungs-
- 20 mitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika. Die erfindungsgemäßen Öle, Lipide, Fettsäuren oder Fettsäuregemische können in der dem Fachmann bekannten Weise zur Abmischung mit anderen Ölen, Lipiden, Fettsäuren oder Fettsäuregemischen tierischen Ursprungs wie z.B. Fischölen verwendet werden. Auch diese Öle, Lipide, Fettsäuren oder Fettsäuregemische, die aus pflanzlichen und tierischen Bestandteilen
- 25 bestehen, können zur Herstellung von Futtermitteln, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika verwendet werden.

- Unter dem Begriff "Öl", "Lipid" oder "Fett" wird ein Fettsäuregemisch verstanden, das ungesättigte, gesättigte, vorzugsweise veresterte Fettsäure(n) enthält. Bevorzugt ist, dass das Öl, Lipid oder Fett einen hohen Anteil an mehrfach ungesättigten freien oder
- 30 vorteilhaft veresterten Fettsäure(n), insbesondere Linolsäure, γ-Linolensäure, Dihomo-γ-linolensäure, Arachidonsäure, α-Linolensäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure oder Docosahexaensäure hat. Vorzugsweise ist der Anteil an ungesättigten veresterten Fettsäuren ungefähr 30 %, mehr bevorzugt ist ein Anteil von 50 %, noch mehr bevorzugt ist ein Anteil von 60 %, 70 %, 80 % oder mehr. Zur Bestimmung kann z.B. der Anteil an Fettsäure nach Überführung der Fettsäuren in die Methylestern durch Umesterung gaschromatographisch bestimmt werden. Das Öl, Lipid oder Fett kann verschiedene andere gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren, z.B. Calendulasäure, Palmitin-, Palmitolein-, Stearin-, Ölsäure etc.,
- 35 enthalten. Insbesondere kann je nach Ausgangsorganismus der Anteil der verschiedenen Fettsäuren in dem Öl oder Fett schwanken.
- 40

Bei den im Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit vorteilhaft mindestens zwei Doppelbindungen enthalten, handelt es sich wie oben beschrieben beispielsweise um Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide, Phospholipide, Monoacylglycerin, Diacylglycerin, Triacylglycerin oder sonstige Fettsäureester.

- 5 Aus den so im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit vorteilhaft mindestens fünf oder sechs Doppelbindungen lassen sich die enthaltenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren beispielsweise über eine Alkalibehandlung beispielsweise wäßrige KOH oder NaOH oder saure Hydrolyse vorteilhaft in Gegenwart eines Alkohols wie Methanol oder Ethanol oder über eine enzymatische
- 10 Abspaltung freisetzen und isolieren über beispielsweise Phasentrennung und anschließender Ansäuerung über z.B. H_2SO_4 . Die Freisetzung der Fettsäuren kann auch direkt ohne die vorhergehend beschriebene Aufarbeitung erfolgen.

- 15 Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren können nach Einbringung in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanzenzelle bzw. Pflanze entweder auf einem separaten Plasmid liegen oder vorteilhaft in das Genom der Wirtszelle integriert sein. Bei Integration in das Genom kann die Integration zufallsgemäß sein oder durch derartige Rekombination erfolgen, dass das native Gen durch die eingebrachte Kopie ersetzt wird, wodurch die Produktion der gewünschten Verbindung durch die Zelle moduliert wird, oder durch Verwendung eines Gens in trans, so dass das Gen mit einer funktionellen Expressionseinheit, welche mindestens eine die Expression eines Gens
- 20 gewährleistende Sequenz und mindestens eine die Polyadenylierung eines funktionell transkribierten Gens gewährleistende Sequenz enthält, funktionell verbunden ist. Vorteilhaft werden die Nukleinsäuren über Multiexpressionskassetten oder Konstrukte zur multiparallelen Expression in die Organismen vorteilhaft zur multiparallelen
- 25 samenspezifischen Expression von Genen in die Pflanzen gebracht.

- 30 Moose und Algen sind die einzigen bekannten Pflanzensysteme, die erhebliche Mengen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wie Arachidonsäure (ARA) und/oder Eicosapentaensäure (EPA) und/oder Docosahexaensäure (DHA) herstellen. Moose enthalten PUFAs in Membranlipiden während Algen, algenverwandte Organismen und einige Pilze auch nennenswerte Mengen an PUFAs in der Triacylglycerolfraction akkumulieren. Daher eignen sich Nukleinsäuremoleküle, die aus solchen Stämmen isoliert werden, die PUFAs auch in der Triacylglycerolfraction akkumulieren, besonders vorteilhaft für das erfindungsgemäße Verfahren und damit zur Modifikation des Lipid- und PUFA-Produktionssystems in einem Wirt, insbesondere Pflanzen, wie Ölfrucht-
- 35 pflanzen, beispielsweise Raps, Canola, Lein, Hanf, Soja, Sonnenblumen, Borretsch. Sie sind deshalb vorteilhaft im erfindungsgemäßen Verfahren verwendbar.

- 40 Als Substrate der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit Δ -12-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder ω -3-Desaturase-Aktivität codieren, und/oder den weiteren verwendeten Nukleinsäuren wie den Nukleinsäuren, die für Polypeptide des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels

ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenase(n), Lipoxygenase(n), Triacylglycerol-Lipase(n), Allenoxid-Synthase(n), Hydroperoxid-Lyase(n) oder Fettsäure-Elongase(n) codieren eignen sich vorteilhaft C₁₆-, C₁₈- oder C₂₀-Fettsäuren. Bevorzugt werden die im Verfahren als Substrate umgesetzten Fettsäuren in Form ihrer Acyl-CoA-Ester und/oder ihrer Phospholipid-Ester umgesetzt.

- 10 Zur Herstellung der erfindungsgemäßen langkettigen PUFAs müssen die mehrfach ungesättigten C₁₈-Fettsäuren zunächst durch die enzymatische Aktivität einer Desaturase zunächst desaturiert und anschließend über eine Elongase um mindestens zwei Kohlenstoffatome verlängert werden. Nach einer Elongationsrunde führt diese Enzymaktivität zu C₂₀-Fettsäuren, und nach zwei Elongationsrunden zu C₂₂-Fettsäuren. Die
- 15 Aktivität der erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Desaturasen und Elongasen führt vorzugsweise zu C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuren vorteilhaft mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt zu C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier,
- 20 fünf oder sechs Doppelbindungen, ganz besonders bevorzugt mit fünf oder sechs Doppelbindungen im Molekül. Nachdem eine erste Desaturierung und die Verlängerung stattgefunden hat, können weitere Desaturierungs- und Elongierungsschritte wie z.B. eine solche Desaturierung in Δ-5- und Δ-4-Position erfolgen. Besonders bevorzugt als Produkte des erfindungsgemäßen Verfahrens sind Dihomo-γ-linolensäure, Arachidonsäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure. Die C₂₀-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure können durch die erfindungsgemäße enzymatische Aktivität in Form der freien Fettsäure oder in Form der Ester, wie Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide, Phosphoglyceride, Monoacylglycerin, Diacylglycerin oder Triacylglycerin, verlängert werden.
- 25
- 30 Der bevorzugte Biosyntheseort von Fettsäuren, Ölen, Lipiden oder Fette in den vorteilhaft verwendeten Pflanzen ist beispielsweise im allgemeinen der Samen oder Zellschichten des Samens, so dass eine samenspezifische Expression der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren sinnvoll ist. Es ist jedoch naheliegend, dass die Biosynthese von Fettsäuren, Ölen oder Lipiden nicht auf das Samengewebe be-
- 35 schränkt sein muss, sondern auch in allen übrigen Teilen der Pflanze - beispielsweise in Epidermiszellen oder in den Knollen - gewebespezifisch erfolgen kann.

Werden im erfindungsgemäßen Verfahren als Organismen Mikroorganismus wie Hefen wie *Saccharomyces* oder *Schizosaccharomyces*, Pilze wie *Mortierella*, *Aspergillus*, *Phytophthora*, *Entomophthora*, *Mucor* oder *Thraustochytrium* Algen wie *Isochrysis*, *Mantoniella*, *Euglena*, *Ostreococcus*, *Phaeodactylum* oder *Cryptocodinium* verwendet, so werden diese Organismen vorteilhaft fermentativ angezogen.

40

Durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren, die für eine Δ -5-Elongase codieren, können im Verfahren die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren mindestens um 5 %, bevorzugt mindestens um 10 %, besonders bevorzugt mindestens um 20 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 50 % gegenüber dem Wildtyp der Organismen, die die Nukleinsäuren nicht rekombinant enthalten, erhöht werden.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren können die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den im Verfahren verwendeten Organismen prinzipiell auf zwei Arten erhöht werden. Es kann vorteilhaft der Pool an freien mehrfach ungesättigten Fettsäuren und/oder der Anteil der über das Verfahren hergestellten veresterten mehrfach ungesättigten Fettsäuren erhöht werden. Vorteilhaft wird durch das erfindungsgemäße Verfahren der Pool an veresterten mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den transgenen Organismen erhöht.

Werden im erfindungsgemäßen Verfahren als Organismen Mikroorganismen verwendet, so werden sie je nach Wirtsorganismus in dem Fachmann bekannter Weise angezogen bzw. gezüchtet. Mikroorganismen werden in der Regel in einem flüssigen Medium, das eine Kohlenstoffquelle meist in Form von Zuckern, eine Stickstoffquelle meist in Form von organischen Stickstoffquellen wie Hefeextrakt oder Salzen wie Ammoniumsulfat, Spurenelemente wie Eisen-, Mangan-, Magnesiumsalze und gegebenenfalls Vitamine enthält, bei Temperaturen zwischen 0°C und 100°C, bevorzugt zwischen 10°C bis 60°C unter Sauerstoffbegasung angezogen. Dabei kann der pH der Nährflüssigkeit auf einen festen Wert gehalten werden, das heißt während der Anzucht reguliert werden oder nicht. Die Anzucht kann batch weise, semi batch weise oder kontinuierlich erfolgen. Nährstoffe können zu Beginn der Fermentation vorgelegt oder semikontinuierlich oder kontinuierlich nachgefüttert werden. Die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren können nach dem Fachmann bekannten Verfahren wie oben beschrieben aus den Organismen isoliert werden. Beispielsweise über Extraktion, Destillation, Kristallisation, ggf. Salzfällung und/oder Chromatographie. Die Organismen können dazu vorher noch vorteilhaft aufgeschlossen werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird, wenn es sich bei den Wirtsorganismen um Mikroorganismen handelt, vorteilhaft bei einer Temperatur zwischen 0°C bis 95°, bevorzugt zwischen 10°C bis 85°C, besonders bevorzugt zwischen 15°C bis 75°C, ganz besonders bevorzugt zwischen 15°C bis 45°C durchgeführt.

Der pH-Wert wird dabei vorteilhaft zwischen pH 4 und 12, bevorzugt zwischen pH 6 und 9, besonders bevorzugt zwischen pH 7 und 8 gehalten.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann batchweise, semi-batchweise oder kontinuierlich betrieben werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bio-reaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.

Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

- 5 Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen wie oben beschrieben gewöhnlich eine oder mehrere Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

- 10 Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z.B. Sojaöl, Sonnenblumenöl, Erdnussöl und/oder Kokosfett, Fettsäuren wie z.B. Palmitinsäure, Stearinsäure und/oder Linolsäure, Alkohole und/oder Polyalkohole wie z. B. Glycerin, Methanol und/oder Ethanol und/oder organische Säuren wie z.B. Essigsäure und/oder Milchsäure.

- 20 Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak in flüssiger- oder gasform oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat oder Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.

Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlorid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, Mangan, Zink, Kupfer und Eisen.

- 30 Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.

- 35 Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydrogenphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.

Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten. Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.

Die erfindungsgemäß zur Kultivierung von Mikroorganismen eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothenat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Melassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Information über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der Anzucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experimentes konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht lässt sich während der Anzucht durch Zugabe von basischen Verbindungen wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder sauren Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung können Antischaummittel wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechterhaltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z.B. Umgebungsluft, in die Kultur eingetragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C und vorzugsweise bei 25°C bis 40°C. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

Die so erhaltenen, insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.

Die Fermentationsbrühe kann anschließend weiterverarbeitet werden. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z. B. Zentrifugation, Filtration, Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder vollständig in ihr belassen werden. Vorteilhaft wird die Biomasse nach Abtrennung aufgearbeitet.

Die Fermentationsbrühe kann aber auch ohne Zellabtrennung mit bekannten Methoden, wie z. B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkonzentrierte Fermentationsbrühe kann schließlich zur Gewinnung der darin enthaltenen Fettsäuren aufgearbeitet werden.

Die im Verfahren gewonnenen Fettsäuren eignen sich auch als Ausgangsmaterial für die chemische Synthese von weiteren Wertprodukten. Sie können beispielsweise in Kombination miteinander oder allein zur Herstellung von Pharmaka, Nahrungsmittel, Tierfutter oder Kosmetika verwendet werden.

Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongase codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten Δ -5-Elongasen C_{20} -Fettsäuren mit mindestens vier Doppelbindungen im Fettsäuremolekül umsetzen; die vorteilhaft letztlich in Diacylglyceride und/oder Triacylglyceride eingebaut werden.

Vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren und die eine Aminosäuresequenz enthalten ausgewählt aus der Gruppe einer Aminosäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141 oder SEQ ID NO: 142 dargestellten Sequenz.

Weitere vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren und die eine Kombination der Aminosäuresequenzen enthalten ausgewählt aus der Gruppe:

- a) SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140; oder
- b) SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 142 oder SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142; oder
- c) SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142.

Die in den Sequenzen SEQ ID NO: 115 (NXXXHXXMYXYX), SEQ ID NO: 116 (HHXXXWAWW), SEQ ID NO: 139 (LHXXHH), SEQ ID NO: 140 (TXXQXXQF), SEQ ID NO: 141 (DTXFMV) und SEQ ID NO: 142 (TQAQXXQF) wiedergegebenen Sequenzen stellen konservierte Bereiche der verschiedenen Elongasen wieder. Tabelle A gibt die Bedeutung der in den genannten Nukleinsäuresequenzen enthaltenen mit X bezeichneten Aminosäuren wieder (Spalte 3). Auch die bevorzugten Aminosäuren in den verschiedenen Positionen sind der Tabelle zu entnehmen (Spalte 3). Spalte 1 gibt die SEQ ID NO wieder, Spalte 2 die Position in der Sequenz.

Tabelle A: Bedeutung der mit X bezeichneten Aminosäure in den Konsensus-Sequenzen.

SEQ ID NO:	Position des X in der Sequenz	Aminosäure	bevorzugte Aminosäure
115 (NXXXHXXMYXXYX)	2	Ser, Cys, Leu, Gly	Cys, Leu
115	3	Thr, Phe, Ile, Ser, Val, Trp, Gly	Phe, Trp
115	4	Val, Ile	Val, Ile
115	6	Val, Ile, Thr	Val, Ile
115	7	Ile, Phe, Val, Leu, Cys	Cys, Val
115	10	Ser, Gly, Tyr, Thr, Ala	Thr, Ser
115	13	Phe, Met, Thr, Leu, Ala, Gly	Leu
116 (HHXXXXWAWW)	3	Ala, Ser, Thr	Ala, Ser besonders bevorzugt Ala
116	4	Thr, Met, Val, Leu, Ile, Ser	Leu, Thr besonders bevorzugt Leu
116	5	Val, Thr, Met, Leu, Ile	Ile, Ser besonders bevorzugt Ile
116	6	Val, Met, Leu, Ile, Ala, Pro, Ser, Phe	Ile, Ser besonders bevorzugt Ile
139 LHXXHH	3	Val, Tyr, Ile	Val, Thr
139	4	Tyr, Phe	Tyr

43

SEQ ID NO:	Position des X in der Sequenz	Aminosäure	bevorzugte Aminosäure
140 TXXQXXQF	2	Asn, Asp, Thr, Gln, Met, Ser, Ala	Gln
140	3	Thr, Cys, Leu, Met, Ala, Ile, Val, Phe	Ala, Met
140	5	Met, Ile, Leu	Met
140	6	Val, Ile, Leu, Thr, Phe	Leu
141 DTXFMV	3	Leu, Ile, Val, Tyr, Phe, Ala	Phe
142 TQAQXXQF	5	Met, Ile, Leu	Met, Leu besonders bevor- zugt Met
142	6	Val, Ile, Leu, Thr, Phe	Leu

Besonders vorteilhafte Δ -5-Elongasen enthalten mindestens eine der Sequenzen SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und/oder SEQ ID NO: 142.

5 Besonders vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- 10 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Sequenz,
- 15 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67,

SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 codieren und eine Δ -5-Elongaseaktivität aufweisen.

10 Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -6-Elongaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81 oder SEQ ID NO: 111 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82 oder SEQ ID NO: 112 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81 oder SEQ ID NO: 111 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82 oder SEQ ID NO: 112 codieren und eine Δ -6-Elongaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 aufweisen und eine ω -3-Desaturaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -6-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 89 oder in SEQ ID NO: 97 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 89 oder SEQ ID NO: 97 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 codieren und eine Δ -6-Desaturaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 10 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 15 c) Derivate der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 codieren und eine Δ -5-Desaturaseaktivität aufweisen.

20 Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 95 oder in SEQ ID NO: 103 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 25 c) Derivate der in SEQ ID NO: 95 oder SEQ ID NO: 103 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 codieren und eine Δ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 30

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -12-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder in SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine Δ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind Genkonstrukte, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 enthalten, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen verbunden ist. Zusätzlich können weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) im Genkonstrukt enthalten sein. Vorteilhaft sind zusätzlich Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe der Δ -4-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -9-Desaturase, Δ -12-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -9-Elongase oder ω -3-Desaturase enthalten.

30 Vorteilhaft stammen alle die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen aus einem eukaryontischen Organismus wie einer Pflanze, einem Mikroorganismus oder einem Tier. Bevorzugt stammen die Nukleinsäuresequenzen aus der Ordnung Salmoniformes, Xenopus oder Ciona, Algen wie Mantoniella, Euglena oder Ostreococcus, Pilzen wie der Gattung Phytophthora oder von Diatomeen wie den Gattungen Thalassiosira oder Cryptocodinium.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen, die für Proteine mit ω -3-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -9-Desaturase-, Δ -12-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- oder Δ -9-Elongase-Aktivität codieren, werden vorteilhaft allein oder bevorzugt in Kombination in einer Expressionskassette (= Nukleinsäurekonstrukt), die die Expression der Nukleinsäuren in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanze oder einem Mikroorganismus ermöglicht,

eingbracht. Es kann im Nukleinsäurekonstrukt mehr als eine Nukleinsäuresequenz einer enzymatischen Aktivität wie z.B. einer Δ -12-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder ω -3-Desaturase enthalten sein.

- 5 Zum Einbringen werden die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren vorteilhaft einer Amplifikation und Ligation in bekannter Weise unterworfen. Vorzugsweise geht man in Anlehnung an das Protokoll der Pfu-DNA-Polymerase oder eines Pfu/Taq-DNA-Polymerasegemisches vor. Die Primer werden in Anlehnung an die zu amplifizierende Sequenz gewählt. Zweckmäßigerweise sollten die Primer so gewählt werden, dass das
- 10 Amplifikat die gesamte kodogene Sequenz vom Start- bis zum Stop-Kodon umfasst. Im Anschluss an die Amplifikation wird das Amplifikat zweckmäßigerweise analysiert. Beispielsweise kann die Analyse nach gelelektrophoretischer Auftrennung hinsichtlich Qualität und Quantität erfolgen. Im Anschluss kann das Amplifikat nach einem Standardprotokoll gereinigt werden (z.B. Qiagen). Ein Aliquot des gereinigten Amplifi-
- 15 kats steht dann für die nachfolgende Klonierung zur Verfügung. Geeignete Klonierungsvektoren sind dem Fachmann allgemein bekannt. Hierzu gehören insbesondere Vektoren, die in mikrobiellen Systemen replizierbar sind, also vor allem Vektoren, die eine effiziente Klonierung in Hefen oder Pilze gewährleisten, und die stabile Transformation von Pflanzen ermöglichen. Zu nennen sind insbesondere verschiedene für die
- 20 T-DNA-vermittelte Transformation geeignete, binäre und co-integrierte Vektorsysteme. Derartige Vektorsysteme sind in der Regel dadurch gekennzeichnet, dass sie zumindest die für die Agrobacterium-vermittelte Transformation benötigten vir-Gene sowie die T-DNA begrenzenden Sequenzen (T-DNA-Border) beinhalten. Vorzugsweise umfassen diese Vektorsysteme auch weitere cis-regulatorische Regionen wie Promo-
- 25 toren und Terminatoren und/oder Selektionsmarker, mit denen entsprechend transformierte Organismen identifiziert werden können. Während bei co-integrierten Vektorsystemen vir-Gene und T-DNA-Sequenzen auf demselben Vektor angeordnet sind, basieren binäre Systeme auf wenigstens zwei Vektoren, von denen einer vir-Gene, aber keine T-DNA und ein zweiter T-DNA, jedoch kein vir-Gen trägt. Dadurch sind
- 30 letztere Vektoren relativ klein, leicht zu manipulieren und sowohl in E.-coli als auch in Agrobacterium zu replizieren. Zu diesen binären Vektoren gehören Vektoren der Serien pBIB-HYG, pPZP, pBecks, pGreen. Erfindungsgemäß bevorzugt verwendet werden Bin19, pBI101, pBinAR, pGPTV und pCAMBIA. Eine Übersicht über binäre Vektoren und ihre Verwendung gibt Hellens et al, Trends in Plant Science (2000) 5,
- 35 446–451. Für die Vektorpräparation können die Vektoren zunächst mit Restriktionsendonuklease(n) linearisiert und dann in geeigneter Weise enzymatisch modifiziert werden. Im Anschluss wird der Vektor gereinigt und ein Aliquot für die Klonierung eingesetzt. Bei der Klonierung wird das enzymatisch geschnittenen und erforderlichen-
- 40 falls gereinigten Amplifikat mit ähnlich präparierten Vektorfragmenten mit Einsatz von Ligase kloniert. Dabei kann ein bestimmtes Nukleinsäurekonstrukt bzw. Vektor- oder Plasmidkonstrukt einen oder auch mehrere kodogene Genabschnitte aufweisen. Vorzugsweise sind die kodogenen Genabschnitte in diesen Konstrukten mit regulatorischen Sequenzen funktional verknüpft. Zu den regulatorischen Sequenzen gehören insbesondere pflanzliche Sequenzen wie die oben beschriebenen Promotoren und

Terminatoren. Die Konstrukte lassen sich vorteilhafterweise in Mikroorganismen, insbesondere *Escherichia coli* und *Agrobacterium tumefaciens*, unter selektiven Bedingungen stabil propagieren und ermöglichen einen Transfer von heterologer DNA in Pflanzen oder Mikroorganismen.

- 5 Unter der vorteilhaften Verwendung von Klonierungsvektoren können die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die erfinderischen Nukleinsäuren und Nukleinsäurekonstrukte in Organismen wie Mikroorganismen oder vorteilhaft Pflanzen eingebracht werden und damit bei der Pflanzentransformation verwendet werden, wie denjenigen, die veröffentlicht sind in und dort zitiert sind: Plant Molecular Biology and Biotechnology (CRC Press, Boca Raton, Florida), Kapitel 6/7, S. 71-119 (1993); F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, 15-38; B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225). Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die erfinderischen Nukleinsäuren und Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren lassen sich damit zur gentechnologischen Veränderung eines breiten Spektrums an Organismen vorteilhaft an Pflanzen verwenden, so dass diese bessere und/oder effizientere Produzenten von PUFAs werden.
- 20 Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die eine Veränderung des erfindungsgemäßen Δ -12-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -6-Desaturase- und/oder ω -3-Desaturase-Proteins sowie der weiteren im Verfahren verwendeten Proteine wie die Δ -12-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase- oder Δ -4-Desaturase-Proteine möglich ist, so dass die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der vorteilhaft mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einer Pflanze bevorzugt in einer Ölfuchtpflanze oder einem Mikroorganismus aufgrund dieses veränderten Proteins direkt beeinflusst werden kann. Die Anzahl oder Aktivität der Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Proteine oder -Gene kann erhöht werden, so dass größere Mengen der Genprodukte und damit letztlich größere Mengen der Verbindungen der allgemeinen Formel I hergestellt werden. Auch eine de novo Synthese in einem Organismus, dem die Aktivität und Fähigkeit zur Biosynthese der Verbindungen vor dem Einbringen des/der entsprechenden Gens/Gene fehlte, ist möglich. Entsprechendes gilt für die Kombination mit weiteren Desaturasen oder Elongasen oder weiteren Enzymen aus dem Fettsäure- und Lipidstoffwechsel. Auch die Verwendung verschiedener divergenter, d.h. auf DNA-Sequenzebene unterschiedlicher Sequenzen kann dabei vorteilhaft sein bzw. die Verwendung von Promotoren zur Genexpression, die eine andere zeitliche Genexpression z.B. abhängig vom Reifegrad eines Samens oder Öl-speichernden Gewebes ermöglicht.

Durch das Einbringen eines Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase-

und/oder Δ -4-Desaturase-Genes in einen Organismus allein oder in Kombination mit anderen Genen in eine Zelle kann nicht nur den Biosynthesefluss zum Endprodukt erhöht, sondern auch die entsprechende Triacylglycerin-Zusammensetzung erhöht oder de novo geschaffen werden. Ebenso kann die Anzahl oder Aktivität anderer Gene, die am Import von Nährstoffen, die zur Biosynthese einer oder mehrerer Fettsäuren, Ölen, polaren und/oder neutralen Lipiden nötig sind, erhöht sein, so dass die Konzentration dieser Vorläufer, Cofaktoren oder Zwischenverbindungen innerhalb der Zellen oder innerhalb des Speicherkompartiments erhöht ist, wodurch die Fähigkeit der Zellen zur Produktion von PUFAs, wie im folgenden beschrieben, weiter gesteigert wird. Durch Optimierung der Aktivität oder Erhöhung der Anzahl einer oder mehrerer Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Gene, die an der Biosynthese dieser Verbindungen beteiligt sind, oder durch Zerstören der Aktivität einer oder mehrerer Gene, die am Abbau dieser Verbindungen beteiligt sind, kann es möglich sein, die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion von Fettsäure- und Lipidmolekülen aus Organismen und vorteilhaft aus Pflanzen zu steigern.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten isolierten Nukleinsäuremoleküle codieren für Proteine oder Teile von diesen, wobei die Proteine oder das einzelne Protein oder Teile davon eine Aminosäuresequenz enthält, die ausreichend homolog zu einer Aminosäuresequenz ist, die in den Sequenzen SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138 dargestellt ist, so dass die Proteine oder Teile davon noch eine Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Aktivität aufweisen. Vorzugsweise haben die Proteine oder Teile davon, die von dem Nukleinsäuremolekül/den Nukleinsäuremolekülen kodiert wird/werden, noch seine wesentliche enzymatische Aktivität und die Fähigkeit, am Stoffwechsel von zum Aufbau von Zellmembranen oder Lipidkörperchen in Organismen vorteilhaft in Pflanzen notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über diese Membranen teilzunehmen. Vorteilhaft sind die von den Nukleinsäuremolekülen kodierten Proteine zu mindestens etwa 50 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 %, 80 % oder 90 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr identisch zu den in

- SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138 dargestellten Aminosäuresequenzen. Im Sinne der Erfindung ist unter Homologie oder homolog, Identität oder identisch zu verstehen.
- Die Homologie wurde über den gesamten Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für das Vergleichen verschiedener Sequenzen stehen dem Fachmann eine Reihe von Programmen, die auf verschiedenen Algorithmen beruhen zur Verfügung. Dabei liefern die Algorithmen von Needleman und Wunsch oder Smith und Waterman besonders zuverlässige Ergebnisse. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG Software-Packet [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm GAP über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Diese Einstellungen wurden, falls nicht anders angegeben, immer als Standardeinstellungen für Sequenzvergleiche verwendet wurden.
- Unter wesentlicher enzymatischer Aktivität der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -4-Desaturase ist zu verstehen, dass sie gegenüber den durch die Sequenz mit SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ

ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 und deren Derivate codierten Proteinen/Enzymen im Vergleich noch mindestens eine enzymatische Aktivität von mindestens 10 %, bevorzugt 20 %, besonders bevorzugt 30 % und ganz besonders 40 % aufweisen und damit am Stoffwechsel von zum Aufbau von Fettsäuren, Fettsäureester wie Diacylglyceride und/oder Triacylglyceride in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanze oder Pflanzenzelle notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über Membranen teilnehmen können, wobei C₁₈-, C₂₀- oder C₂₂-Kohlenstoffketten im Fettsäuremolekül mit Doppelbindungen an mindestens zwei, vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Stellen gemeint sind.

Vorteilhaft im Verfahren verwendbare Nukleinsäuren stammen aus Bakterien, Pilzen, Diatomeen, Tieren wie *Caenorhabditis* oder *Oncorhynchus* oder Pflanzen wie Algen oder Moosen wie den Gattungen *Shewanella*, *Physcomitrella*, *Thraustochytrium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Ceratodon*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Isochrysis*, *Aleurita*, *Muscarioides*, *Mortierella*, *Borago*, *Phaeodactylum*, *Cryptocodinium*, speziell aus den Gattungen und Arten *Oncorhynchus mykiss*, *Xenopus laevis*, *Ciona intestinalis*, *Thalassiosira pseudonona*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus* sp., *Ostreococcus tauri*, *Euglena gracilis*, *Physcomitrella patens*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium gramineum*, *Cryptocodinium cohnii*, *Ceratodon purpureus*, *Isochrysis galbana*, *Aleurita farinosa*, *Thraustochytrium* sp., *Muscarioides viallii*, *Mortierella alpina*, *Borago officinalis*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Caenorhabditis elegans* oder besonders vorteilhaft aus *Oncorhynchus mykiss*, *Euglena gracilis*, *Thalassiosira pseudonona* oder *Cryptocodinium cohnii*.

Alternativ können im erfindungsgemäßen Verfahren Nukleotidsequenzen verwendet werden, die für eine Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -4-Desaturase codieren und die an eine Nukleotidsequenz, wie in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 dargestellt, vorteilhaft unter stringenten Bedingungen hybridisieren.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen werden vorteilhaft in einer Expressionskassette, die die Expression der Nukleinsäuren in Organismen wie Mikroorganismen oder Pflanzen ermöglicht, eingebracht.

5 Dabei werden die Nukleinsäuresequenzen, die für die Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -4-Desaturase codieren, mit einem oder mehreren Regulationssignalen vorteilhafterweise zur Erhöhung der Genexpression funktionell verknüpft. Diese regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Gene und der Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je
10 nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert und/oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird. Beispielsweise handelt es sich bei diesen regulatorischen Sequenzen um Sequenzen an die Induktoren oder Repressoren binden und so die Expression der Nukleinsäure regulieren. Zusätzlich zu diesen neuen Regulationssequenzen oder
15 anstelle dieser Sequenzen kann die natürliche Regulation dieser Sequenzen vor den eigentlichen Strukturgenen noch vorhanden sein und gegebenenfalls genetisch verändert worden sein, so dass die natürliche Regulation ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht wurde. Die Expressionskassette (= Expressionskonstrukt = Genkonstrukt) kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es wurden keine
20 zusätzlichen Regulationssignale vor die Nukleinsäuresequenz oder dessen Derivate inseriert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wurde nicht entfernt. Stattdessen wurde die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und/oder die Genexpression gesteigert wird. Diese veränderten Promotoren können in Form von Teilsequenzen (= Promotor mit Teilen der erfindungs-
25 gemäßen Nukleinsäuresequenzen) auch allein vor das natürliche Gen zur Steigerung der Aktivität gebracht werden. Das Genkonstrukt kann außerdem vorteilhafterweise auch eine oder mehrere sogenannte "enhancer Sequenzen" funktionell verknüpft mit dem Promotor enthalten, die eine erhöhte Expression der Nukleinsäuresequenz ermöglichen. Auch am 3'-Ende der DNA-Sequenzen können zusätzliche vorteilhafte
30 Sequenzen inseriert werden wie weitere regulatorische Elemente oder Terminatoren. Die Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Elongase- und/oder Δ -9-Elongase-Gene können in einer oder mehreren Kopien in der Expressionskassette (= Genkonstrukt) enthalten sein. Vorteilhaft liegt nur jeweils eine Kopie der Gene in der
35 Expressionskassette vor. Dieses Genkonstrukt oder die Genkonstrukte können zusammen im Wirtsorganismus exprimiert werden. Dabei kann das Genkonstrukt oder die Genkonstrukte in einem oder mehreren Vektoren inseriert sein und frei in der Zelle vorliegen oder aber im Genom inseriert sein. Es ist vorteilhaft für die Insertion weiterer Gene im Wirtsgenom, wenn die zu exprimierenden Gene zusammen in einem Gen-
40 konstrukt vorliegen.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhaft-

erweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

- 5 Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sind ein oder mehrere Genkonstrukte, die eine oder mehrere Sequenzen enthalten, die durch SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 oder dessen Derivate definiert sind und für Polypeptide gemäß SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138 kodieren. Die genannten Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Proteine führen dabei vorteilhaft zu einer Desaturierung oder Elongierung von Fettsäuren, wobei das Substrat vorteilhaft ein, zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen aufweist und vorteilhaft 18, 20 oder 22 Kohlenstoffatome im Fettsäuremolekül aufweist. Gleiches gilt für ihre Homologen, Derivate oder Analoga, die funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen, vorteilhafterweise zur Steigerung der Genexpression, verbunden sind.
- 40 Vorteilhafte Regulationssequenzen für das neue Verfahren liegen beispielsweise in Promotoren vor, wie dem cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-, lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, λ -PR- oder λ -PL-Promotor und werden vorteilhafterweise in Gram-negativen Bakterien angewendet. Weitere vorteilhafte Regulations-

sequenzen liegen beispielsweise in den Gram-positiven Promotoren amy und SPO2, in den Hefe- oder Pilzpromotoren ADC1, MF α , AC, P-60, CYC1, GAPDH, TEF, rp28, ADH oder in den Pflanzenpromotoren CaMV/35S [Franck et al., Cell 21 (1980) 285–294], PRP1 [Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, nos oder im Ubiquitin- oder Phaseolin-Promotor vor. In diesem Zusammenhang vorteilhaft sind ebenfalls induzierbare Promotoren, wie die in EP–A–0 388 186 (Benzylsulfonamid-induzierbar), Plant J. 2, 1992:397–404 (Gatz et al., Tetracyclin-induzierbar), EP–A–0 335 528 (Abzissäure-induzierbar) oder WO 93/21334 (Ethanol- oder Cyclohexenol-induzierbar) beschriebenen Promotoren. Weitere geeignete Pflanzenpromotoren sind der Promotor von cytosolischer FBPase oder der ST-LSI-Promotor der Kartoffel (Stockhaus et al., EMBO J. 8, 1989, 2445), der Phosphoribosyl-pyrophosphatamidotransferase-Promotor aus Glycine max (Genbank-Zugangsnr. U87999) oder der in EP–A–0 249 676 beschriebene nodienspezifische Promotor. Besonders vorteilhafte Promotoren sind Promotoren, welche die Expression in Geweben ermöglichen, die an der Fettsäurebiosynthese beteiligt sind. Ganz besonders vorteilhaft sind samenspezifische Promotoren, wie der ausführungsgemäße USP Promotor aber auch andere Promotoren wie der LeB4-, DC3, Phaseolin- oder Napin-Promotor. Weitere besonders vorteilhafte Promotoren sind samenspezifische Promotoren, die für monokotyle oder dikotyle Pflanzen verwendet werden können und in US 5,608,152 (Napin-Promotor aus Raps), WO 98/45461 (Oleosin-Promotor aus Arabidopsis), US 5,504,200 (Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris), WO 91/13980 (Bce4-Promotor aus Brassica), von Bäumlein et al., Plant J., 2, 2, 1992:233–239 (LeB4-Promotor aus einer Leguminose) beschrieben sind, wobei sich diese Promotoren für Dikotyledonen eignen. Die folgenden Promotoren eignen sich beispielsweise für Monokotyledonen lpt–2– oder lpt–1–Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230), Hordein-Promotor aus Gerste und andere, in WO 99/16890 beschriebene geeignete Promotoren.

Es ist im Prinzip möglich, alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen, wie die oben genannten, für das neue Verfahren zu verwenden. Es ist ebenfalls möglich und vorteilhaft, zusätzlich oder alleine synthetische Promotoren zu verwenden, besonders wenn sie eine Samen-spezifische Expression vermitteln, wie z.B. beschrieben in WO 99/16890.

Um einen besonders hohen Gehalt an PUFAs vor allem in transgenen Pflanzen zu erzielen, sollten die PUFA-Biosynthesegene vorteilhaft samenspezifisch in Ölsaaten exprimiert werden. Hierzu können Samen-spezifische Promotoren verwendet werden, bzw. solche Promotoren die im Embryo und/oder im Endosperm aktiv sind. Samen-spezifische Promotoren können prinzipiell sowohl aus dikotyledonen als auch aus monokotyledonen Pflanzen isoliert werden. Im folgenden sind vorteilhafte bevorzugte Promotoren aufgeführt: USP (= unknown seed protein) und Vicilin (Vicia faba) [Bäumlein et al., Mol. Gen. Genet., 1991, 225(3)], Napin (Raps) [US 5,608,152], Acyl-Carrier Protein (Raps) [US 5,315,001 und WO 92/18634], Oleosin (Arabidopsis thaliana) [WO 98/45461 und WO 93/20216], Phaseolin (Phaseolus vulgaris) [US 5,504,200], Bce4 [WO 91/13980], Leguminosen B4 (LegB4-Promotor) [Bäumlein et al., Plant J.,

- 2,2, 1992], Lpt2 und lpt1 (Gerste) [WO 95/15389 u. WO95/23230], Samen-spezifische Promotoren aus Reis, Mais u. Weizen [WO 99/16890], Amy32b, Amy 6-6 und Aleurain [US 5,677,474], Bce4 (Raps) [US 5,530,149], Glycinin (Soja) [EP 571.741], Phosphoenol-Pyruvatcarboxylase (Soja) [JP 06/62870], ADR12-2 (Soja) [WO 98/08962], Isocitratlyase (Raps) [US 5,689,040] oder α -Amylase (Gerste) [EP 781.849].

- Die Pflanzengenexpression lässt sich auch über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

- Um eine stabile Integration der Biosynthesegene in die transgene Pflanze über mehrere Generation sicherzustellen, sollte jede der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für die Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase und/oder Δ -4-Desaturase codieren, unter der Kontrolle eines eigenen bevorzugt eines unterschiedlichen Promotors exprimiert werden, da sich wiederholende Sequenzmotive zu Instabilität der T-DNA bzw. zu Rekombinationsereignissen führen können. Die Expressionskassette ist dabei vorteilhaft so aufgebaut, dass einem Promotor eine geeignete Schnittstelle zur Insertion der zu exprimierenden Nukleinsäure folgt vorteilhaft in einem Polylinker anschließend gegebenenfalls ein Terminator hinter dem Polylinker liegt. Diese Abfolge wiederholt sich mehrfach bevorzugt drei-, vier- oder fünfmal, so dass bis zu fünf Gene in einem Konstrukt zusammengeführt werden und so zur Expression in die transgene Pflanze eingebracht werden können. Vorteilhaft wiederholt sich die Abfolge bis zu dreimal. Die Nukleinsäuresequenzen werden zur Expression über die geeignete Schnittstelle beispielsweise im Polylinker hinter den Promotor inseriert. Vorteilhaft hat jede Nukleinsäuresequenz ihren eigenen Promotor und gegebenenfalls ihren eigenen Terminator. Derartige vorteilhafte Konstrukte werden beispielsweise in DE 10102337 oder DE 10102338 offenbart. Es ist aber auch möglich mehrere Nukleinsäuresequenzen hinter einem Promotor und ggf. vor einem Terminator zu inserieren. Dabei ist die Insertionsstelle bzw. die Abfolge der inserierten Nukleinsäuren in der Expressionskassette nicht von entscheidender Bedeutung, das heißt eine Nukleinsäuresequenz kann an erster oder letzter Stelle in der Kassette inseriert sein, ohne dass dadurch die Expression wesentlich beeinflusst wird. Es können in der Expressionskassette vorteilhaft unterschiedliche Promotoren wie beispielsweise der USP-, LegB4 oder DC3-Promotor und unterschiedliche Terminatoren verwendet werden. Es ist aber auch möglich nur einen Promortyp in der Kassette zu verwenden. Dies kann jedoch zu unerwünschten Rekombinationsereignissen führen.
- Wie oben beschrieben sollte die Transkription der eingebrachten Gene vorteilhaft durch geeignete Terminatoren am 3'-Ende der eingebrachten Biosynthesegene (hinter dem Stoppcodon) abgebrochen werden. Verwendet werden kann hier z.B. der OCS1

Terminator. Wie auch für die Promotoren, so sollten hier für jedes Gen unterschiedliche Terminatorsequenzen verwendet werden.

Das Genkonstrukt kann, wie oben beschrieben, auch weitere Gene umfassen, die in die Organismen eingebracht werden sollen. Es ist möglich und vorteilhaft, in die Wirtsorganismen Regulationsgene, wie Gene für Induktoren, Repressoren oder Enzyme, welche durch ihre Enzymaktivität in die Regulation eines oder mehrerer Gene eines Biosynthesewegs eingreifen, einzubringen und darin zu exprimieren. Diese Gene können heterologen oder homologen Ursprungs sein. Weiterhin können vorteilhaft im Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthalten sein oder aber diese Gene können auf einem weiteren oder mehreren weiteren Nukleinsäurekonstrukten liegen. Vorteilhaft werden als Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ein Gen ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenase(n), Lipoxygenase(n), Triacylglycerol-Lipase(n), Allenoxid-Synthase(n), Hydroperoxid-Lyase(n) oder Fettsäure-Elongase(n) oder deren Kombinationen verwendet. Besonders vorteilhafte Nukleinsäuresequenzen sind Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe der Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase, ω -3-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -9-Desaturase, Δ -12-Desaturase, Δ -5-Elongase, Δ -6-Elongase und/oder Δ -9-Elongase.

Dabei können die vorgenannten Nukleinsäuren bzw. Gene in Kombination mit anderen Elongasen und Desaturasen in Expressionskassetten, wie den vorgenannten, kloniert werden und zur Transformation von Pflanzen Mithilfe von Agrobakterium eingesetzt werden.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird. Die Expressionskassetten können prinzipiell direkt zum Einbringen in die Pflanze verwendet werden oder aber in einen Vektoren eingebracht werden.

Diese vorteilhaften Vektoren, vorzugsweise Expressionsvektoren, enthalten die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für die Δ -12-Desaturasen, ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen oder Δ -4-Desaturasen codieren, oder ein Nukleinsäurekonstrukt, die die verwendeten Nukleinsäure allein oder in Kombination mit weiteren Biosynthesegenen des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels wie den Acyl-

CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen, ω -3-Desaturasen, Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -9-Desaturasen, Δ -12-Desaturasen, ω 3-Desaturasen, Δ -5-Elongasen, Δ -6-Elongasen und/oder Δ -9-Elongasen. Wie hier verwendet, betrifft der Begriff "Vektor" ein Nukleinsäuremolekül, das eine andere Nukleinsäure transportieren kann, an welche es gebunden ist. Ein Vektortyp ist ein "Plasmid", was für eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife steht, in die zusätzlichen DNA-Segmente ligiert werden können. Ein weiterer Vektortyp ist ein viraler Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale Genom ligiert werden können. Bestimmte Vektoren können in einer Wirtszelle, in die sie eingebracht worden sind, autonom replizieren (z.B. Bakterienvektoren mit bakteriellem Replikationsursprung). Andere Vektoren werden vorteilhaft beim Einbringen in die Wirtszelle in das Genom einer Wirtszelle integriert und dadurch zusammen mit dem Wirtsgenom repliziert. Zudem können bestimmte Vektoren die Expression von Genen, mit denen sie funktionsfähig verbunden sind, steuern. Diese Vektoren werden hier als "Expressionsvektoren" bezeichnet. Gewöhnlich haben Expressionsvektoren, die für DNA-Rekombinationstechniken geeignet sind, die Form von Plasmiden. In der vorliegenden Beschreibung können "Plasmid" und "Vektor" austauschbar verwendet werden, da das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch diese anderen Expressionsvektorformen, wie virale Vektoren, die ähnliche Funktionen ausüben, umfassen. Ferner soll der Begriff Vektor auch andere Vektoren, die dem Fachmann bekannt sind, wie Phagen, Viren, wie SV40, CMV, TMV, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Phagemide, Cosmide, lineare oder zirkuläre DNA, umfassen.

Die im Verfahren vorteilhaft verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren umfassen die unten beschriebenen Nukleinsäuren oder das oben beschriebene Genkonstrukt in einer Form, die sich zur Expression der verwendeten Nukleinsäuren in einer Wirtszelle eignen, was bedeutet, dass die rekombinanten Expressionsvektoren eine oder mehrere Regulationssequenzen, ausgewählt auf der Basis der zur Expression zu verwendenden Wirtszellen, die mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz funktionsfähig verbunden ist, umfasst. In einem rekombinanten Expressionsvektor bedeutet "funktionsfähig verbunden", dass die Nukleotidsequenz von Interesse derart an die Regulationssequenz(en) gebunden ist, dass die Expression der Nukleotidsequenz möglich ist und sie aneinander gebunden sind, so dass beide Sequenzen die vorhergesagte, der Sequenz zugeschriebene Funktion erfüllen (z.B. in einem In-vitro-Transkriptions-/Translationssystem oder in einer Wirtszelle, wenn der Vektor in die Wirtszelle eingebracht wird). Der Begriff "Regulationssequenz" soll Promotoren, Enhancer und andere Expressionskontrollelemente (z.B. Polyadenylierungssignale) umfassen. Diese Regulationssequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel: Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990), oder siehe: Gruber und Crosby, in: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, CRC Press, Boca Raton, Florida, Hrsgb.: Glick und Thompson, Kapitel 7, 89-108, einschließlich der Literaturstellen darin. Regulationssequenzen umfassen solche, welche die konstitutive Expression einer Nukleotidsequenz in vielen Wirtszelltypen steuern, und solche, welche die direkte Expression der Nukleotidsequenz nur in bestimmten Wirtszellen unter bestimmten Bedingungen steuern. Der Fachmann weiß,

dass die Gestaltung des Expressionsvektors von Faktoren, wie der Auswahl der zu transformierenden Wirtszelle, dem Ausmaß der Expression des gewünschten Proteins usw., abhängen kann.

Die verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren können zur Expression von Δ -12-Desaturasen, ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen in prokaryotischen oder eukaryotischen Zellen gestaltet sein. Dies ist vorteilhaft, da häufig Zwischenschritte der Vektorkonstruktion der Einfachheit halber in Mikroorganismen durchgeführt werden. Beispielsweise können die Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -4-Desaturase-Gene in bakteriellen Zellen, Insektenzellen (unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren), Hefe- und anderen Pilzzellen (siehe Romanos, M.A., et al. (1992) "Foreign gene expression in yeast: a review", *Yeast* 8:423-488; van den Hondel, C.A.M.J.J., et al. (1991) "Heterologous gene expression in filamentous fungi", in: *More Gene Manipulations in Fungi*, J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428: Academic Press: San Diego; und van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi", in: *Applied Molecular Genetics of Fungi*, Peberdy, J.F., et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge), Algen (Falcitore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1, 3:239-251), Ciliaten der Typen: Holotrichia, Peritrichia, Spirotrichia, Suctorina, Tetrahymena, Paramecium, Colpidium, Glaucoma, Platyophrya, Potomacus, Desaturaseudocohnilembus, Euplotes, Engelmanniella und Stylonychia, insbesondere der Gattung Stylonychia lemnae, mit Vektoren nach einem Transformationsverfahren, wie beschrieben in WO 98/01572, sowie bevorzugt in Zellen vielzelliger Pflanzen (siehe Schmidt, R. und Willmitzer, L. (1988) "High efficiency Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants" *Plant Cell Rep.*:583-586; *Plant Molecular Biology and Biotechnology*, C Press, Boca Raton, Florida, Kapitel 6/7, S.71-119 (1993); F.F. White, B. Jené et al., *Techniques for Gene Transfer*, in: *Transgenic Plants*, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-43; Potrykus, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42 (1991), 205-225 (und darin zitierte Literaturstellen)) exprimiert werden. Geeignete Wirtszellen werden ferner erörtert in Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Der rekombinante Expressionsvektor kann alternativ, zum Beispiel unter Verwendung von T7-Promotor-Regulationssequenzen und T7-Polymerase, in vitro transkribiert und translatiert werden.

Die Expression von Proteinen in Prokaryoten erfolgt meist mit Vektoren, die konstitutive oder induzierbare Promotoren enthalten, welche die Expression von Fusions- oder nicht-Fusionsproteinen steuern. Typische Fusions-Expressionsvektoren sind u.a. pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B., und Johnson, K.S. (1988) *Gene* 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird.

Beispiele für geeignete induzierbare nicht-Fusions-E. coli-Expressionsvektoren sind u.a. pTrc (Amann et al. (1988) Gene 69:301-315) und pET 11d (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60-89). Die Zielgenexpression vom pTrc-Vektor beruht auf der

5 Transkription durch Wirts-RNA-Polymerase von einem Hybrid-trp-lac-Fusionspromotor. Die Zielgenexpression aus dem pET 11d-Vektor beruht auf der Transkription von einem T7-gn10-lac-Fusions-Promotor, die von einer coexprimierten viralen RNA-Polymerase (T7 gn1) vermittelt wird. Diese virale Polymerase wird von den Wirts-

10 stämmen BL21 (DE3) oder HMS174 (DE3) von einem residenten λ -Prophagen bereitgestellt, der ein T7 gn1-Gen unter der Transkriptionskontrolle des lacUV 5-Promotors birgt.

Andere in prokaryotischen Organismen geeignete Vektoren sind dem Fachmann bekannt, diese Vektoren sind beispielsweise in E. coli pLG338, pACYC184, die pBR-Reihe, wie pBR322, die pUC-Reihe, wie pUC18 oder pUC19, die M113mp-Reihe, pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, pPLc236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III113-B1,

15 λ gt11 or pBdCl, in Streptomyces pIJ101, pIJ364, pIJ702 oder pIJ361, in Bacillus pUB110, pC194 oder pBD214, in Corynebacterium pSA77 oder pAJ667.

Bei einer weiteren Ausführungsform ist der Expressionsvektor ein Hefe-Expressionsvektor. Beispiele für Vektoren zur Expression in der Hefe *S. cerevisiae* umfassen

20 pYeDesaturasec1 (Baldari et al. (1987) Embo J. 6:229-234), pMFa (Kurjan und Herskowitz (1982) Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene 54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA). Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich zur Verwendung in anderen Pilzen, wie den filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in:

25 van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of fungi, J.F. Peberdy et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge, oder in: More Gene Manipulations in Fungi [J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428: Academic Press: San Diego]. Weitere geeignete Hefektoren sind beispielsweise pAG-1, YEp6, YEp13 oder pEMBLye23.

30

Alternativ können die Δ -12-Desaturasen, ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen in Insektenzellen unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren exprimiert werden. Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von

35 Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (z.B. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al. (1983) Mol. Cell Biol. 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) Virology 170:31-39).

Die oben genannten Vektoren bieten nur einen kleinen Überblick über mögliche geeignete Vektoren. Weitere Plasmide sind dem Fachmann bekannt und sind zum

40 Beispiel beschrieben in: Cloning Vectors (Hrsgb. Pouwels, P.H., et al., Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018). Weitere geeignete Expres-

sionssysteme für prokaryotische und eukaryotische Zellen siehe in den Kapiteln 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F., und Maniatis, T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

- 5 Bei einer weiteren Ausführungsform des Verfahrens können die Δ -12-Desaturasen, ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen in einzelligen Pflanzenzellen (wie Algen), siehe Falciatore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1 (3):239-251 und darin zitierte Literaturangaben, und Pflanzenzellen aus höheren Pflanzen (z.B. 10 Spermatophyten, wie Feldfrüchten) exprimiert werden. Beispiele für Pflanzen-Expressionsvektoren umfassen solche, die eingehend beschrieben sind in: Becker, D., Kemper, E., Schell, J., und Masterson, R. (1992) "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border", *Plant Mol. Biol.* 20:1195-1197; und Bevan, M.W. (1984) "Binary Agrobacterium vectors for plant transformation", *Nucl. 15 Acids Res.* 12:8711-8721; Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: *Transgenic Plants*, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38.

- Eine Pflanzen-Expressionskassette enthält vorzugsweise Regulationssequenzen, welche die Genexpression in Pflanzenzellen steuern können und funktionsfähig 20 verbunden sind, so dass jede Sequenz ihre Funktion, wie Termination der Transkription, erfüllen kann, beispielsweise Polyadenylierungssignale. Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind diejenigen, die aus *Agrobacterium tumefaciens*-T-DNA stammen, wie das als Octopinsynthase bekannte Gen 3 des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., *EMBO J.* 3 (1984) 835ff.) oder funktionelle Äquivalente davon, aber auch alle anderen 25 in Pflanzen funktionell aktiven Terminatoren sind geeignet.

- Da die Pflanzengenexpression sehr oft nicht auf Transkriptionsebenen beschränkt ist, enthält eine Pflanzen-Expressionskassette vorzugsweise andere funktionsfähig 30 verbunden Sequenzen, wie Translationsenhancer, beispielsweise die Overdrive-Sequenz, welche die 5'-untranslatierte Leader-Sequenz aus Tabakmosaikvirus, die das Protein/RNA-Verhältnis erhöht, enthält (Gallie et al., 1987, *Nucl. Acids Research* 15:8693-8711).

- Die Pflanzengenexpression muss wie oben beschrieben funktionsfähig mit einem geeigneten Promotor verbunden sein, der die Genexpression auf rechtzeitige, zell- oder gewebespezifische Weise durchführt. Nutzbare Promotoren sind konstitutive 35 Promotoren (Benfey et al., *EMBO J.* 8 (1989) 2195-2202), wie diejenigen, die von Pflanzenviren stammen, wie 35S CAMV (Franck et al., *Cell* 21 (1980) 285-294), 19S CaMV (siehe auch US 5352605 und WO 84/02913) oder Pflanzenpromotoren, wie der in US 4,962,028 beschriebene der kleinen Untereinheit der Rubisco.

- Andere bevorzugte Sequenzen für die Verwendung zur funktionsfähigen Verbindung in 40 Pflanzengenexpressions-Kassetten sind Targeting-Sequenzen, die zur Steuerung des Genproduktes in sein entsprechendes Zellkompartiment notwendig sind (siehe eine

Übersicht in Kermode, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423 und darin zitierte Literaturstellen), beispielsweise in die Vakuole, den Zellkern, alle Arten von Plastiden, wie Amyloplasten, Chloroplasten, Chromoplasten, den extrazellulären Raum, die Mitochondrien, das Endoplasmatische Retikulum, Ölkörper, Peroxisomen und andere Kompartimente von Pflanzenzellen.

Die Pflanzengenexpression lässt sich auch wie oben beschrieben über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

Auch Promotoren, die auf biotische oder abiotische Stressbedingungen reagieren, sind geeignete Promotoren, beispielsweise der pathogeninduzierte PRP1-Gen-Promotor (Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993) 361-366), der hitzeinduzierbare hsp80-Promotor aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare Alpha-Amylase-Promotor aus Kartoffel (WO 96/12814) oder der durch Wunden induzierbare pinII-Promotor (EP-A-0 375 091).

Es sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, welche die Genexpression in Geweben und Organen herbeiführen, in denen die Fettsäure-, Lipid- und Ölbiosynthese stattfindet, in Samenzellen, wie den Zellen des Endosperms und des sich entwickelnden Embryos. Geeignete Promotoren sind der Napingen-Promotor aus Raps (US 5,608,152), der USP-Promotor aus Vicia faba (Baeumlein et al., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3):459-67), der Oleosin-Promotor aus Arabidopsis (WO 98/45461), der Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris (US 5,504,200), der Bce4-Promotor aus Brassica (WO 91/13980) oder der Legumin-B4-Promotor (LeB4; Baeumlein et al., 1992, Plant Journal, 2 (2):233-9) sowie Promotoren, welche die samenspezifische Expression in Monokotyledonen-Pflanzen, wie Mais, Gerste, Weizen, Roggen, Reis usw. herbeiführen. Geeignete beachtenswerte Promotoren sind der lpt2- oder lpt1-Gen-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230) oder die in WO 99/16890 beschriebenen (Promotoren aus dem Gersten-Hordein-Gen, dem Reis-Glutelin-Gen, dem Reis-Oryzin-Gen, dem Reis-Prolamin-Gen, dem Weizen-Gliadin-Gen, Weizen-Glutelin-Gen, dem Mais-Zein-Gen, dem Hafer-Glutelin-Gen, dem Sorghum-Kasirin-Gen, dem Roggen-Secalin-Gen).

Insbesondere kann die multiparallele Expression der im Verfahren verwendeten Δ -12-Desaturasen, ω -3-Desaturasen, Δ -9-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -8-Desaturasen, Δ -6-Elongasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -5-Elongasen und/oder Δ -4-Desaturasen gewünscht sein. Die Einführung solcher Expressionskassetten kann über eine simultane Transformation mehrerer einzelner Expressionskonstrukte erfolgen oder bevorzugt durch Kombination mehrerer Expressionskassetten auf einem Konstrukt. Auch können

mehrere Vektoren mit jeweils mehreren Expressionskassetten transformiert und auf die Wirtszelle übertragen werden.

5 Ebenfalls besonders geeignet sind Promotoren, welche die plastidenspezifische Expression herbeiführen, da Plastiden das Kompartiment sind, in dem die Vorläufer sowie einige Endprodukte der Lipidbiosynthese synthetisiert werden. Geeignete Promotoren, wie der virale RNA-Polymerase-Promotor, sind beschrieben in WO 95/16783 und WO 97/06250, und der *clpP*-Promotor aus *Arabidopsis*, beschrieben in WO 99/46394.

10 Vektor-DNA lässt sich in prokaryotische oder eukaryotische Zellen über herkömmliche Transformations- oder Transfektionstechniken einbringen. Die Begriffe "Transformation" und "Transfektion", Konjugation und Transduktion, wie hier verwendet, sollen eine Vielzahl von im Stand der Technik bekannten Verfahren zum Einbringen fremder Nukleinsäure (z.B. DNA) in eine Wirtszelle, einschließlich Calciumphosphat- oder Calciumchlorid-Copräzipitation, DEAE-Dextran-vermittelte Transfektion, Lipofektion, natürliche Kompetenz, chemisch vermittelter Transfer, Elektroporation oder Teilchen-
15 beschuss, umfassen. Geeignete Verfahren zur Transformation oder Transfektion von Wirtszellen, einschließlich Pflanzenzellen, lassen sich finden in Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual., 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) und anderen
20 Labor-Handbüchern, wie Methods in Molecular Biology, 1995, Bd. 44, Agrobacterium protocols, Hrsgb: Gartland und Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey.

Wirtszellen, die im Prinzip zum Aufnehmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, des erfindungsgemäßen Genproduktes oder des erfindungsgemäßen Vektors geeignet
25 sind, sind alle prokaryotischen oder eukaryotischen Organismen. Die vorteilhafterweise verwendeten Wirtsorganismen sind Mikroorganismen, wie Pilze oder Hefen oder Pflanzenzellen vorzugsweise Pflanzen oder Teile davon. Pilze, Hefen oder Pflanzen werden vorzugsweise verwendet, besonders bevorzugt Pflanzen, ganz besonders bevorzugt Pflanzen, wie Ölfuchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen
30 enthalten, wie Raps, Nachtkerze, Hanf, Diestel, Erdnuss, Canola, Lein, Soja, Saflor, Sonnenblume, Borretsch, oder Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölplume, Kokosnuss) sowie ausdauernde
35 Gräser und Futterfeldfrüchte. Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfuchtpflanzen, wie Soja, Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Hanf, Nachtkerze, Sonnenblume, Saflor, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss).

Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind wie oben beschrieben isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongase-Aktivität codieren, wobei
40 die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten Elongase C₁₆- und C₁₈- Fettsäuren mit einer Doppelbindung und vorteilhaft mehrfach ungesättigte C₁₈-Fettsäuren mit einer

$\Delta 6$ -Doppelbindung und mehrfach ungesättigte C_{20} -Fettsäuren mit einer $\Delta 5$ -Doppelbindung umgesetzt. C_{22} -Fettsäuren werden nicht elongiert.

5 Vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit $\Delta 5$ -Elongaseaktivität codieren und die eine Aminosäuresequenz enthalten ausgewählt aus der Gruppe einer Aminosäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141 oder SEQ ID NO: 142 dargestellten Sequenz.

10 Weitere vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit $\Delta 5$ -Elongaseaktivität codieren und die eine Kombination der Aminosäuresequenzen enthalten ausgewählt aus der Gruppe:

- a) SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140; oder
- b) SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 142 oder SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142; oder
- 15 c) SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142.

Bevorzugte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit $\Delta 5$ -Elongaseaktivität codieren enthalten vorteilhaft die vorgenannten Aminosäuresequenzen. Diese werden in Tabelle A näher beschrieben.

20 Besonders vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Sequenz,
- 25 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 30 c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäu-
- 35

64

5 reebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 aufweisen und eine Δ -5-Elongaseaktivität aufweisen.

Weitere Erfindungsgegenstände sind die im folgenden aufgezählten Nukleinsäuresequenzen, die für Δ -6-Elongasen, ω -3-Desaturasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -4-Desaturasen oder Δ -12-Desaturasen codieren.

10 Weitere vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- 15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81 oder SEQ ID NO: 111 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82 oder SEQ ID NO: 112 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 20 c) Derivate der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81 oder SEQ ID NO: 111 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82 oder SEQ ID NO: 112 codieren und eine Δ -6-Elongaseaktivität aufweisen.

Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 25 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 30 c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 aufweisen und eine ω -3-Desaturaseaktivität aufweisen.

Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -6-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 35 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 89 oder in SEQ ID NO: 97 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 89 oder SEQ ID NO: 97 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 codieren und eine Δ -6-Desaturaseaktivität aufweisen.

Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 10 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 15 c) Derivate der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 codieren und eine Δ -5-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 20 Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 95 oder in SEQ ID NO: 103 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 25 c) Derivate der in SEQ ID NO: 95 oder SEQ ID NO: 103 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 codieren und eine Δ -6-
- 30 Desaturaseaktivität aufweisen.

Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -12-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder in SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine Δ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.

10 Die oben genannte erfindungsgemäßen Nukleinsäuren stammen von Organismen, wie nicht-humanen Tieren, Ciliaten, Pilzen, Pflanzen wie Algen oder Dinoflagellaten, die PUFAs synthetisieren können.

15 Vorteilhaft stammen die isolierten oben genannten Nukleinsäuresequenzen aus der Ordnung Salmoniformes, Xenopus oder Ciona, den Diatomeengattungen Thalassiosira oder Crythecodinium oder aus der Familie der Prasinophyceae wie der Gattung Ostreococcus oder der Familie Euglenaceae wie der Gattung Euglena oder Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora stammt.

20 Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind wie oben beschrieben isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturase-Aktivität codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten ω -3-Desaturasen C_{18} -, C_{20} - und C_{22} -Fettsäuren mit zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen und vorteilhaft mehrfach ungesättigte C_{18} -Fettsäuren mit zwei oder drei Doppelbindungen und mehrfach ungesättigte C_{20} -Fettsäuren mit zwei, drei oder vier Doppelbindungen umsetzt. Auch C_{22} -Fettsäuren mit vier oder fünf Doppelbindungen werden desaturiert.

25 Zu den erfindungsgemäßen Gegenständen gehören außerdem, wie oben beschrieben, isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit Δ -12-Desaturasen, Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen und Δ -6-Desaturasen codieren, wobei die durch diese Nukleinsäuresequenzen codierten Δ -12-Desaturasen, Δ -4-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen oder Δ -6-Desaturasen C_{18} -, C_{20} - und C_{22} -Fettsäuren mit ein, zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen und vorteilhaft mehrfach ungesättigte C_{18} -Fettsäuren mit ein, zwei oder drei Doppelbindungen wie $C_{18:1}^{\Delta 9}$, $C_{18:2}^{\Delta 9,12}$ oder $C_{18:3}^{\Delta 9,12,15}$,
30 mehrfach ungesättigte C_{20} -Fettsäuren mit drei oder vier Doppelbindungen wie $C_{20:3}^{\Delta 8,11,14}$ oder $C_{20:4}^{\Delta 8,11,14,17}$ oder mehrfach ungesättigte C_{22} -Fettsäuren mit vier oder fünf Doppelbindungen wie $C_{22:4}^{\Delta 7,10,13,16}$ oder $C_{22:5}^{\Delta 7,10,13,16,19}$ umsetzen. Vorteilhaft werden die Fettsäuren in den Phospholipiden oder CoA-Fettsäureestern desaturiert, vorteilhaft in den CoA-Fettsäureester.

35 Der Begriff "Nukleinsäure(molekül)", wie hier verwendet, umfasst in einer vorteilhaften Ausführungsform zudem die am 3'- und am 5'-Ende des kodierenden Genbereichs gelegene untranslatierte Sequenz: mindestens 500, bevorzugt 200, besonders bevorzugt 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes des kodierenden Bereichs und mindestens 100, bevorzugt 50, besonders bevorzugt 20 Nukleotide der
40 Sequenz stromabwärts des 3'-Endes des kodierenden Genbereichs. Ein "isoliertes"

Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure vorliegen. Eine "isolierte" Nukleinsäure hat vorzugsweise keine Sequenzen, welche die Nukleinsäure in der genomischen DNA des Organismus, aus dem die Nukleinsäure stammt, natürlicherweise flankieren (z.B. Sequenzen, die sich an den 5'- und 3'-Enden der Nukleinsäure befinden). Bei verschiedenen Ausführungsformen kann das isolierte Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturasemolekül zum Beispiel weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder 0,1 kb an Nukleotidsequenzen enthalten, die natürlicherweise das Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die Nukleinsäure stammt flankieren.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuremoleküle, z.B. ein Nukleinsäuremolekül mit einer Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 oder eines Teils davon, kann unter Verwendung molekularbiologischer Standardtechniken und der hier bereitgestellten Sequenzinformation isoliert werden. Auch kann Mithilfe von Vergleichsalgorithmen beispielsweise eine homologe Sequenz oder homologe, konservierte Sequenzbereiche auf DNA oder Aminosäureebene identifiziert werden. Diese können als Hybridisierungssonde sowie Standard-Hybridisierungstechniken (wie z.B. beschrieben in Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) zur Isolierung weiterer im Verfahren nützlicher Nukleinsäuresequenzen verwendet werden. Überdies lässt sich ein Nukleinsäuremolekül, umfassend eine vollständige Sequenz der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103,

SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 oder einen Teil davon, durch Polymerasekettenreaktion isolieren, wobei Oligonukleotidprimer, die auf der Basis dieser Sequenz oder von

5 Teilen davon, verwendet werden (z.B. kann ein Nukleinsäuremolekül, umfassend die vollständigen Sequenz oder einen Teil davon, durch Polymerasekettenreaktion unter Verwendung von Oligonukleotidprimern isoliert werden, die auf der Basis dieser gleichen Sequenz erstellt worden sind). Zum Beispiel lässt sich mRNA aus Zellen

10 isolieren (z.B. durch das Guanidiniumthiocyanat-Extraktionsverfahren von Chirgwin et al. (1979) Biochemistry 18:5294-5299) und cDNA mittels Reverser Transkriptase (z.B. Moloney-MLV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Gibco/BRL, Bethesda, MD, oder AMV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Seikagaku America, Inc., St.Petersburg, FL) herstellen. Synthetische Oligonukleotidprimer zur Amplifizierung mittels Polymere-

15 sekettenreaktion lassen sich auf der Basis einer der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID

20 NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ

25 ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 gezeigten Sequenzen oder Mithilfe der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28,

30 SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82,

35 SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138 dargestellten Aminosäuresequenzen

40 erstellen. Eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kann unter Verwendung von cDNA oder alternativ von genomischer DNA als Matrize und geeigneten Oligonukleotidprimern gemäß Standard-PCR-Amplifikationstechniken amplifiziert werden. Die so amplifizierte Nukleinsäure kann in einen geeigneten Vektor kloniert werden und mittels DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Oligonukleotide, die einer

45 Desaturase-Nukleotidsequenz entsprechen, können durch Standard-

Syntheseverfahren, beispielsweise mit einem automatischen DNA-Synthesegerät, hergestellt werden.

Homologe der verwendeten Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-Nukleinsäuresequenzen mit der Sequenz SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 bedeutet beispielsweise allelische Varianten mit mindestens etwa 50 oder 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 oder 70 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 oder 80 %, 90 % oder 95 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr Identität bzw. Homologie zu einer in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 gezeigten Nukleotidsequenzen oder ihren Homologen, Derivaten oder Analoga oder Teilen davon. Weiterhin sind isolierte Nukleinsäuremoleküle einer Nukleotidsequenz, die an eine der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 gezeigten Nukleotidsequenzen oder ihren Homologen, Derivaten oder Analoga oder Teilen davon.

NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 gezeigten Nukleotidsequenzen oder einen Teil davon hybridisieren, z.B. unter stringenten Bedingungen hybridisiert. Unter einem Teil gemäß der Erfindung ist dabei zu verstehen, dass mindestens 25 Basenpaare (= bp), 50 bp, 75 bp, 100 bp, 125 bp oder 150 bp, bevorzugt mindestens 175 bp, 200 bp, 225 bp, 250 bp, 275 bp oder 300 bp, besonders bevorzugt 350 bp, 400 bp, 450 bp, 500 bp oder mehr Basenpaare für die Hybridisierung verwendet werden. Es kann auch vorteilhaft die Gesamtsequenz verwendet werden. Allelische Varianten umfassen insbesondere funktionelle Varianten, die sich durch Deletion, Insertion oder Substitution von Nukleotiden aus/in der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 dargestellten Sequenz erhalten lassen, wobei aber die Absicht ist, dass die Enzymaktivität der davon herrührenden synthetisierten Proteine für die Insertion eines oder mehrerer Gene vorteilhafterweise beibehalten wird. Proteine, die noch die enzymatische Aktivität der Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -9-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -8-Desaturase, Δ -6-Elongase, Δ -5-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -4-Desaturase besitzen, das heißt deren Aktivität im wesentlichen nicht reduziert ist, bedeutet Proteine mit mindestens 10 %, vorzugsweise 20 %, besonders bevorzugt 30 %, ganz besonders bevorzugt 40 % der ursprünglichen Enzymaktivität, verglichen mit dem durch SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 kodierten Protein. Die Homologie wurde über den

gesamten Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für das Vergleichen verschiedener Sequenzen stehen dem Fachmann eine Reihe von Programmen, die auf verschiedenen Algorithmen beruhen zur Verfügung. Dabei liefern die Algorithmen von Needleman und Wunsch oder Smith und Waterman besonders zuverlässige Ergebnisse. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG Software-Packet [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm GAP über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Die falls nicht anders angegeben als Standardeinstellungen immer für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

Homologen der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 bedeuten beispielsweise auch bakterielle, Pilz- und Pflanzenhomologen, verkürzte Sequenzen, einzelsträngige DNA oder RNA der kodierenden und nicht-kodierenden DNA-Sequenz.

Homologen der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 bedeutet auch Derivate, wie beispielsweise Promotor-

varianten. Die Promotoren stromaufwärts der angegebenen Nukleotidsequenzen können durch einen oder mehrere Nukleotidaustausche, durch Insertion(en) und/oder Deletion(en) modifiziert werden, ohne dass jedoch die Funktionalität oder Aktivität der Promotoren gestört wird. Es ist weiterhin möglich, dass die Aktivität der Promotoren durch Modifikation ihrer Sequenz erhöht ist oder dass sie vollständig durch aktivere Promotoren, sogar aus heterologen Organismen, ersetzt werden.

Die vorgenannten Nukleinsäuren und Proteinmoleküle mit Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- und/oder Δ -4-Desaturase-Aktivität, die am Stoffwechsel von Lipiden und Fettsäuren, PUFA-Cofaktoren und Enzymen oder am Transport lipophiler Verbindungen über Membranen beteiligt sind, werden im erfindungsgemäßen Verfahren zur Modulation der Produktion von PUFAs in transgenen Organismen vorteilhaft in Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Linum Arten wie Öl- oder Faserlein, Brassica-Arten, wie Raps, Canola und Rübsen, Pfeffer, Sonnenblume, Borretsch, Nachtkerze und Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Maniok, Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss) und ausdauernden Gräsern und Futterfeldfrüchten, entweder direkt (z.B. wenn die Überexpression oder Optimierung eines Fettsäurebiosynthese-Proteins einen direkten Einfluss auf die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der Fettsäure aus modifizierten Organismen hat) verwendet und/oder können eine indirekt Auswirkung haben, die dennoch zu einer Steigerung der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der PUFAs oder einer Abnahme unerwünschter Verbindungen führt (z.B. wenn die Modulation des Stoffwechsels von Lipiden und Fettsäuren, Cofaktoren und Enzymen zu Veränderungen der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion oder der Zusammensetzung der gewünschten Verbindungen innerhalb der Zellen führt, was wiederum die Produktion einer oder mehrerer Fettsäuren beeinflussen kann).

Die Kombination verschiedener Vorläufermoleküle und Biosyntheseenzyme führt zur Herstellung verschiedener Fettsäuremoleküle, was eine entscheidende Auswirkung auf die Zusammensetzung der Lipide hat. Da mehrfach ungesättigte Fettsäuren (= PUFAs) nicht nur einfach in Triacylglycerin sondern auch in Membranlipide eingebaut werden.

Besonders zur Herstellung von PUFAs, beispielsweise Stearidonsäure, Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure eignen sich Brassicaceae, Boraginaceen, Primulaceen, oder Linaceen. Besonders vorteilhaft eignet sich Lein (*Linum usitatissimum*) zur Herstellung von PUFAs mit dem erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen vorteilhaft, wie beschrieben, in Kombination mit weiteren Desaturasen und Elongasen.

Die Lipidsynthese lässt sich in zwei Abschnitte unterteilen: die Synthese von Fettsäuren und ihre Bindung an sn-Glycerin-3-Phosphat sowie die Addition oder Modifikation einer polaren Kopfgruppe. Übliche Lipide, die in Membranen verwendet werden, umfassen Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide und Phosphoglyceride. Die

- Fettsäuresynthese beginnt mit der Umwandlung von Acetyl-CoA in Malonyl-CoA durch die Acetyl-CoA-Carboxylase oder in Acetyl-ACP durch die Acetyltransacylase. Nach einer Kondensationsreaktion bilden diese beiden Produktmoleküle zusammen Acetoacetyl-ACP, das über eine Reihe von Kondensations-, Reduktions- und Dehydratisierungsreaktionen umgewandelt wird, so dass ein gesättigtes Fettsäuremolekül mit der gewünschten Kettenlänge erhalten wird. Die Produktion der ungesättigten Fettsäuren aus diesen Molekülen wird durch spezifische Desaturasen katalysiert, und zwar entweder aerob mittels molekularem Sauerstoff oder anaerob (bezüglich der Fettsäuresynthese in Mikroorganismen siehe F.C. Neidhardt et al. (1996) *E. coli* und Salmonella. ASM Press: Washington, D.C., S. 612-636 und darin enthaltene Literaturstellen; Lengeler et al. (Hrsgb.) (1999) *Biology of Prokaryotes*. Thieme: Stuttgart, New York, und die enthaltene Literaturstellen, sowie Magnuson, K., et al. (1993) *Microbiological Reviews* 57:522-542 und die enthaltenen Literaturstellen). Die so hergestellten an Phospholipide gebundenen Fettsäuren müssen anschließend wieder für die weitere Elongationen aus den Phospholipiden in den FettsäureCoA-Ester-Pool überführt werden. Dies ermöglichen Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen. Weiterhin können diese Enzyme die elongierten Fettsäuren wieder von den CoA-Estern auf die Phospholipide übertragen. Diese Reaktionsabfolge kann gegebenenfalls mehrfach durchlaufen werden.
- 20 Vorläufer für die PUFA-Biosynthese sind beispielsweise Ölsäure, Linol- und Linolensäure. Diese C_{18} -Kohlenstoff-Fettsäuren müssen auf C_{20} und C_{22} verlängert werden, damit Fettsäuren vom Eicosa- und Docosa-Kettentyp erhalten werden. Mithilfe der im Verfahren verwendeten Desaturasen wie der Δ -12-, ω 3-, Δ -4-, Δ -5-, Δ -6- und Δ -8-Desaturasen und/oder der Δ -5-, Δ -6-, Δ -9-Elongasen können Arachidonsäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure oder Docosahexaensäure vorteilhaft
- 25 Eicosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure hergestellt werden und anschließend für verschiedene Zwecke bei Nahrungsmittel-, Futter-, Kosmetik- oder pharmazeutischen Anwendungen verwendet werden. Mit den genannten Enzymen können C_{20} - und/oder C_{22} -Fettsäuren mit mindestens zwei vorteilhaft mindestens drei, vier, fünf
- 30 oder sechs Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuren mit vorteilhaft vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäuremolekül hergestellt werden. Die Desaturierung kann vor oder nach Elongation der entsprechenden Fettsäure erfolgen. Daher führen die Produkte der Desaturaseaktivitäten und der möglichen weiteren Desaturierung und Elongation zu bevorzugten PUFAs mit höherem Desaturierungsgrad, einschließlich einer weiteren Elongation von C_{20} zu C_{22} -Fettsäuren, zu Fettsäuren wie γ -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure, Arachidonsäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Substrate der verwendeten Desaturasen und Elongasen im erfindungsgemäßen Verfahren sind C_{16} -, C_{18} - oder C_{20} -Fettsäuren wie zum Beispiel Linolsäure, γ -Linolensäure, α -Linolensäure,
- 35 Dihomo- γ -linolensäure, Eicosatetraensäure oder Stearidonsäure. Bevorzugte Substrate sind Linolsäure, γ -Linolensäure und/oder α -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure bzw. Arachidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Die synthetisierten C_{20} - oder C_{22} -Fettsäuren mit mindestens zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppel-
- 40

bindungen in der Fettsäure fallen im erfindungsgemäßen Verfahren in Form der freien Fettsäure oder in Form ihrer Ester beispielsweise in Form ihrer Glyceride an.

Unter dem Begriff "Glycerid" wird ein mit ein, zwei oder drei Carbonsäureresten verestertes Glycerin verstanden (Mono-, Di- oder Triglycerid). Unter "Glycerid" wird auch ein Gemisch an verschiedenen Glyceriden verstanden. Das Glycerid oder das Glyceridgemisch kann weitere Zusätze, z.B. freie Fettsäuren, Antioxidantien, Proteine, Kohlenhydrate, Vitamine und/oder andere Substanzen enthalten.

Unter einem "Glycerid" im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens werden ferner vom Glycerin abgeleitete Derivate verstanden. Dazu zählen neben den oben beschriebenen Fettsäureglyceriden auch Glycerophospholipide und Glyceroglycolipide. Bevorzugt seien hier die Glycerophospholipide wie Lecithin (Phosphatidylcholin), Cardiolipin, Phosphatidylglycerin, Phosphatidylserin und Alkylacylglycerophospholipide beispielhaft genannt.

Ferner müssen Fettsäuren anschließend an verschiedene Modifikationsorte transportiert und in das Triacylglycerin-Speicherlipid eingebaut werden. Ein weiterer wichtiger Schritt bei der Lipidsynthese ist der Transfer von Fettsäuren auf die polaren Kopfgruppen, beispielsweise durch Glycerin-Fettsäure-Acyltransferase (siehe Frentzen, 1998, Lipid, 100(4-5):161-166).

Veröffentlichungen über die Pflanzen-Fettsäurebiosynthese, Desaturierung, den Lipidstoffwechsel und Membrantransport von fetthaltigen Verbindungen, die Betaoxidation, Fettsäuremodifikation und Cofaktoren, Triacylglycerin-Speicherung und -Assemblierung einschließlich der Literaturstellen darin siehe in den folgenden Artikeln: Kinney, 1997, Genetic Engineering, Hrsgb.: JK Setlow, 19:149-166; Ohlrogge und Browse, 1995, Plant Cell 7:957-970; Shanklin und Cahoon, 1998, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49:611-641; Voelker, 1996, Genetic Engineering, Hrsgb.: JK Setlow, 18:111-13; Gerhardt, 1992, Prog. Lipid R. 31:397-417; Gühnemann-Schäfer & Kindl, 1995, Biochim. Biophys Acta 1256:181-186; Kunau et al., 1995, Prog. Lipid Res. 34:267-342; Stymne et al., 1993, in: Biochemistry and Molecular Biology of Membrane and Storage Lipids of Plants, Hrsgb.: Murata und Somerville, Rockville, American Society of Plant Physiologists, 150-158, Murphy & Ross 1998, Plant Journal. 13(1):1-16.

Die im Verfahren hergestellten PUFAs, umfassen eine Gruppe von Molekülen, die höhere Tiere nicht mehr synthetisieren können und somit aufnehmen müssen oder die höhere Tiere nicht mehr ausreichend selbst herstellen können und somit zusätzlich aufnehmen müssen, obwohl sie leicht von anderen Organismen, wie Bakterien, synthetisiert werden, beispielsweise können Katzen Arachidonsäure nicht mehr synthetisieren.

Unter Phospholipiden im Sinne der Erfindung sind zu verstehen Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerin und/oder Phosphatidylinositol vorteilhafterweise Phosphatidylcholin. Die Begriffe Produktion oder

Produktivität sind im Fachgebiet bekannt und beinhalten die Konzentration des Fermentationsproduktes (Verbindungen der Formel I), das in einer bestimmten Zeitspanne und einem bestimmten Fermentationsvolumen gebildet wird (z.B. kg Produkt pro Stunde pro Liter). Es umfasst auch die Produktivität innerhalb einer Pflanzenzelle oder einer Pflanze, das heißt den Gehalt an den gewünschten im Verfahren hergestellten Fettsäuren bezogen auf den Gehalt an allen Fettsäuren in dieser Zelle oder Pflanze. Der Begriff Effizienz der Produktion umfasst die Zeit, die zur Erzielung einer bestimmten Produktionsmenge nötig ist (z.B. wie lange die Zelle zur Aufrichtung einer bestimmten Durchsatzrate einer Feinchemikalie benötigt). Der Begriff Ausbeute oder Produkt/Kohlenstoff-Ausbeute ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Effizienz der Umwandlung der Kohlenstoffquelle in das Produkt (d.h. die Feinchemikalie). Dies wird gewöhnlich beispielsweise ausgedrückt als kg Produkt pro kg Kohlenstoffquelle. Durch Erhöhen der Ausbeute oder Produktion der Verbindung wird die Menge der gewonnenen Moleküle oder der geeigneten gewonnenen Moleküle dieser Verbindung in einer bestimmten Kulturmenge über einen festgelegten Zeitraum erhöht. Die Begriffe Biosynthese oder Biosyntheseweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Synthese einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle aus Zwischenverbindungen, beispielsweise in einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Die Begriffe Abbau oder Abbauweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Spaltung einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle in Abbauprodukte (allgemeiner gesagt, kleinere oder weniger komplexe Moleküle) beispielsweise in einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Der Begriff Stoffwechsel ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Gesamtheit der biochemischen Reaktionen, die in einem Organismus stattfinden. Der Stoffwechsel einer bestimmten Verbindung (z.B. der Stoffwechsel einer Fettsäure) umfasst dann die Gesamtheit der Biosynthese-, Modifikations- und Abbauwege dieser Verbindung in der Zelle, die diese Verbindung betreffen.

Bei einer weiteren Ausführungsform kodieren Derivate des erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls wieder gegeben in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 Proteine mit mindestens 40 %, vorteilhaft etwa 50 oder 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 oder 70 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 oder 80 %, 80 bis 90 %, 90 bis 95 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr Homologie (= Identität) zu einer vollständigen Aminosäuresequenz der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96,

SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138. Die Homologie wurde über den gesamten Aminosäure- bzw.

- 5 Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG Software-Packet [Genetics Computer Group, 575
10 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm BestFit über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Die falls
15 nicht anders angegeben als Standardeinstellungen immer für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

- Die Erfindung umfasst zudem Nukleinsäuremoleküle, die sich von einer der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID
20 NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 gezeigten Nukleotidsequenzen (und Teilen davon) aufgrund des
25 degenerierten genetischen Codes unterscheiden und somit die gleiche Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -6-Elongase oder Δ -5-Elongase codieren wie diejenige, die von den in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID
30 NO: 133 gezeigten Nukleotidsequenzen kodiert wird.

- 35 Zusätzlich zu den in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 gezeigten Δ -12-Desaturasen, ω -3-Desaturasen, Δ -5-Elongasen, Δ -6-Desaturasen, Δ -5-Desaturasen, Δ -4-Desaturasen
40 oder Δ -6-Elongasen erkennt der Fachmann, dass DNA-Sequenzpolymorphismen, die

- zu Änderungen in den Aminosäuresequenzen der Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -5-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -4-Desaturase und/oder Δ -6-Elongase führen, innerhalb einer Population existieren können. Diese genetischen Polymorphismen im Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase- und/oder Δ -6-Elongase-Gen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund von natürlicher Variation existieren. Diese natürlichen Varianten bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz des Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase- und/oder Δ -6-Elongase-Gens. Sämtliche und alle dieser Nukleotidvariationen und daraus resultierende Aminosäurepolymorphismen in der Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -5-Elongase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -4-Desaturase und/oder Δ -6-Elongase, die das Ergebnis natürlicher Variation sind und die funktionelle Aktivität von nicht verändern, sollen im Umfang der Erfindung enthalten sein.
- Für das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhafte Nukleinsäuremoleküle können auf der Grundlage ihrer Homologie zu den hier offenbarten Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -5-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase- und/oder Δ -6-Elongase-Nukleinsäuren unter Verwendung der Sequenzen oder eines Teils davon als Hybridisierungs-sonde gemäß Standard-Hybridisierungstechniken unter stringenten Hybridisierungsbedingungen isoliert werden. Dabei können beispielsweise isolierte Nukleinsäuremoleküle verwendet werden, die mindestens 15 Nukleotide lang sind und unter stringenten Bedingungen mit dem Nukleinsäuremolekülen, die eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 umfassen, hybridisieren. Es können auch Nukleinsäuren mindestens 25, 50, 100, 250 oder mehr Nukleotide verwendet werden. Der Begriff "hybridisiert unter stringenten Bedingungen", wie hier verwendet, soll Hybridisierungs- und Waschbedingungen beschreiben, unter denen Nukleotidsequenzen, die mindestens 60 % homolog zueinander sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Die Bedingungen sind vorzugsweise derart, dass Sequenzen, die mindestens etwa 65 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 75 % oder stärker zueinander homolog sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Diese stringenten Bedingungen sind dem Fachmann bekannt und lassen sich in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6., finden. Ein bevorzugtes, nicht einschränkendes Beispiel für stringente Hybridisierungsbedingungen sind Hybridisierungen in 6 x Natriumchlorid/Natriumcitrat (sodium chloride/sodium citrate = SSC) bei etwa 45°C, gefolgt von einem oder mehreren Waschschritten in 0,2 x SSC, 0,1 % SDS bei 50 bis 65°C. Dem Fachmann ist bekannt, dass diese Hybridisierungsbedingungen sich je nach dem Typ der Nukleinsäure und, wenn beispielsweise organische Lösungsmittel vorliegen,

- hinsichtlich der Temperatur und der Konzentration des Puffers unterscheiden. Die Temperatur unterscheidet sich beispielsweise unter "Standard-Hybridisierungsbedingungen" je nach dem Typ der Nukleinsäure zwischen 42°C und 58°C in wässrigem Puffer mit einer Konzentration von 0,1 bis 5 x SSC (pH 7,2). Falls
- 5 organisches Lösungsmittel im obengenannten Puffer vorliegt, zum Beispiel 50 % Formamid, ist die Temperatur unter Standardbedingungen etwa 42°C. Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA:DNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 20°C bis 45°C, vorzugsweise zwischen 30°C und 45°C. Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA:RNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 30°C
- 10 bis 55°C, vorzugsweise zwischen 45°C und 55°C. Die vorstehend genannten Hybridisierungstemperaturen sind beispielsweise für eine Nukleinsäure mit etwa 100 bp (= Basenpaare) Länge und einem G + C-Gehalt von 50 % in Abwesenheit von Formamid bestimmt. Der Fachmann weiß, wie die erforderlichen Hybridisierungsbedingungen anhand von Lehrbüchern, wie dem vorstehend erwähnten oder aus den folgenden
- 15 Lehrbüchern Sambrook et al., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Hames und Higgins (Hrsgb.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford; Brown (Hrsgb.) 1991, "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford, bestimmt werden können.
- 20 Zur Bestimmung der prozentualen Homologie (= Identität) von zwei Aminosäuresequenzen (z.B. einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90,
- 25 SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134) oder von zwei Nukleinsäuren (z.B. SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133) werden die Sequenzen zum Zweck des optimalen
- 30 Vergleichs untereinander geschrieben (z.B. können Lücken in die Sequenz eines Proteins oder einer Nukleinsäure eingefügt werden, um ein optimales Alignment mit dem anderen Protein oder der anderen Nukleinsäure zu erzeugen). Die Aminosäurereste oder Nukleotide an den entsprechenden Aminosäurepositionen oder Nukleotidpositionen werden dann verglichen. Wenn eine Position in einer Sequenz durch den gleichen Aminosäurerest oder das gleiche Nukleotid wie die entsprechende Stelle in der anderen Sequenz belegt wird, dann sind die Moleküle an dieser Position homolog (d.h. Aminosäure- oder Nukleinsäure-"Homologie", wie hier verwendet, entspricht Aminosäure- oder Nukleinsäure-"Identität"). Die prozentuale Homologie zwischen den
- 35 beiden Sequenzen ist eine Funktion der Anzahl an identischen Positionen, die den
- 40

Sequenzen gemeinsam sind (d.h. % Homologie = Anzahl der identischen Positionen/Gesamtanzahl der Positionen x 100). Die Begriffe Homologie und Identität sind damit als Synonym anzusehen. Die verwendeten Programme bzw. Algorithmen sind oben beschrieben.

- 5 Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das für eine Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -5-Elongase und/oder Δ -6-Elongase kodiert, die zu einer Proteinsequenz der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 homolog ist, kann durch Einbringen einer oder mehrerer Nukleotidsubstitutionen, -additionen oder -deletionen in
- 10 eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 erzeugt werden, so dass eine oder mehrere Aminosäuresubstitutionen, -additionen oder -deletionen in das kodierte Protein eingebracht werden. Mutationen können in eine der Sequenzen der SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 durch Standardtechniken, wie stellenspezifische Mutagenese und PCR-vermittelte Mutagenese, eingebracht werden. Vorzugsweise werden konservative Aminosäuresubstitutionen an einer oder mehreren der vorhergesagten nicht-
- 20 essentiellen Aminosäureresten hergestellt. Bei einer "konservativen Aminosäuresubstitution" wird der Aminosäurerest gegen einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette ausgetauscht. Im Fachgebiet sind Familien von Aminosäureresten mit ähnlichen Seitenketten definiert worden. Diese Familien umfassen Aminosäuren mit basischen Seitenketten (z.B. Lysin, Arginin, Histidin), sauren Seitenketten (z.B. Asparaginsäure, Glutaminsäure), ungeladenen polaren Seitenketten (z.B. Glycin, Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Tyrosin, Cystein), unpolaren Seitenketten, (z.B. Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenylalanin, Methionin, Tryptophan), beta-
- 25 verzweigten Seitenketten (z.B. Threonin, Valin, Isoleucin) und aromatischen Seitenketten (z.B. Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin). Ein vorhergesagter nicht-essentieller Aminosäurerest in einer Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -6-Elongase wird
- 30
- 35
- 40

- somit vorzugsweise durch einen anderen Aminosäurerest aus der gleichen Seitenkettenfamilie ausgetauscht. Alternativ können bei einer anderen Ausführungsform die Mutationen zufallsgemäß über die gesamte oder einen Teil der Δ -12-Desaturase, ω -3-Desaturase, Δ -6-Desaturase, Δ -5-Desaturase, Δ -4-Desaturase, Δ -5-Elongase oder Δ -6-Elongase kodierenden Sequenz eingebracht werden, z.B. durch Sättigungsmutagenese, und die resultierenden Mutanten können nach der hier beschriebenen Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -6-Elongase-Aktivität durchmustert werden, um Mutanten zu identifizieren, die die Δ -12-Desaturase-, ω -3-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -6-Elongase-Aktivität beibehalten haben. Nach der Mutagenese einer der Sequenzen SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 kann das kodierte Protein rekombinant exprimiert werden, und die Aktivität des Proteins kann z.B. unter Verwendung der hier beschriebenen Tests bestimmt werden.
- Weitere Erfindungsgegenstände sind transgene nicht-humane Organismen, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 enthalten oder ein Genkonstrukt oder einen Vektor, die diese erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen enthalten. Vorteilhaft handelt es sich bei dem nicht-humanen Organismus um einen Mikroorganismus, ein nicht-humanes Tier oder eine Pflanze, besonders bevorzugt um eine Pflanze.

Diese Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele weiter veranschaulicht, die nicht als beschränkend aufgefasst werden sollten. Der Inhalt sämtlicher in dieser Patentanmeldung zitierten Literaturstellen, Patentanmeldungen, Patente und veröffentlichten Patentanmeldungen ist hier durch Bezugnahme aufgenommen.

Beispiele

Beispiel 1: Allgemeine Klonierungsverfahren:

Die Klonierungsverfahren wie z.B. Restriktionsspaltungen, Agarose-Gelelektrophorese, Reinigung von DNA-Fragmenten, Transfer von Nukleinsäuren auf Nitrozellulose und Nylon Membranen, Verknüpfen von DNA-Fragmenten, Transformation von Escherichia coli Zellen, Anzucht von Bakterien und die Sequenzanalyse rekombinanter DNA

wurden wie bei Sambrook et al. (1989) (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-309-6) beschrieben durchgeführt.

Beispiel 2: Sequenzanalyse rekombinanter DNA:

- 5 Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgte mit einem Laserfluoreszenz-DNA-Sequenzierer der Firma ABI nach der Methode von Sanger (Sanger et al. (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA74, 5463-5467). Fragmente resultierend aus einer Polymerase Kettenreaktion wurden zur Vermeidung von Polymerasefehlern in zu exprimierenden Konstrukten sequenziert und überprüft.

Beispiel 3: Klonierung von Genen aus *Oncorhynchus mykiss*

- 10 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen entsprechend der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene wurden zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in der Sequenzdatenbank von Genbank identifiziert.

Gen-Name	Genbank No	Aminosäuren
OmELO2	CA385234, CA364848, CA366480	264
OmELO3	CA360014, CA350786	295

- 15 Gesamt-RNA von *Oncorhynchus mykiss* wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe von oligo-dT-Cellulose poly-A+ RNA (mRNA) isoliert (Sambrook et al., 1989). Die RNA wurde mit dem Reverse Transcription System Kit von Promega revers transkribiert und die synthetisierte cDNA in den lambda ZAP Vektor (lambda ZAP Gold, Stratagene) kloniert. Entsprechend Herstellerangaben wurde die cDNA zur Plasmid-DNA entpackt. Die cDNA-Plasmid-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden verwendet.
- 20

Beispiel 4: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

Für die Klonierung der zwei Sequenzen zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Primer	Nukleotidsequenz
5' f* OmELO2	5' aagcttacataatggcttcaacatggcaa (SEQ ID NO: 179)
3' r* OmELO2	5' ggatccttatgtcttcttcttcttctgtt (SEQ ID NO: 180)
5' f OmELO3	5' aagcttacataatggagactttta (SEQ ID NO: 181)
3' r OmELO3	5' ggatccttcagtcctccctcactttcc (SEQ ID NO: 182)

* f: forward, r: reverse

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
 - 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂
 - 5,00 µL 2mM dNTP
 - 5 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
 - 0,50 µL Advantage-Polymerase
- Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
- 10 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- Elongationstemperatur: 2 min 72°C
- Anzahl der Zyklen: 35

- Das PCR Produkt wurde für 2 h bei 37 °C mit den Restriktionsenzymen HindIII und BamHI inkubiert. Der Hefe-Expressionsvektor pYES3 (Invitrogen) wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde das 812 bp bzw. 905 bp große PCR Produkt sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und Elongase cDNA ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet.
- 20 Die entstandenen Plasmide pYES3-OmELO2 und pYES3-OmELO3 wurden durch Sequenzierung verifiziert und in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde pYES3 parallel transformiert. Anschliessend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Tryptophan mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die auf ohne Tryptophan im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES3, pYES3-OmELO2 (SEQ ID NO: 51) und pYES3-OmELO3 (SEQ ID NO: 53). Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 5: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- 30 Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende des kodierenden Sequenz eingefügt:
- PSUN-OmELO2
- Forward: 5'-GCGGCCGCATAATGGCTTCAACATGGCAA (SEQ ID NO: 175)
- 35 Reverse: 3'-GCGGCCGCTTATGTCTTCTTGCTCTTCCTGTT (SEQ ID NO: 176)
- PSUN-OMELO3
- Forward: 5'-GCGGCCGCataatggagacttttaaat (SEQ ID NO: 177)
- Reverse: 3'-GCGGCCGctcagtcctccctcactttcc (SEQ ID NO: 178)

83

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂

5,00 µL 2mM dNTP

5 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

10 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert.

15 Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide

20 pSUN-OmELO2 und pSUN-OmELO3 wurde durch Sequenzierung verifiziert.

pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das

25 Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das

30 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standard-primer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz:

35 5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 174). Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von Arabidopsis thaliana, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Beispiel 6: Lipidextraktion aus Hefen und Samen:

Die Auswirkung der genetischen Modifikation in Pflanzen, Pilzen, Algen, Ciliaten oder auf die Produktion einer gewünschten Verbindung (wie einer Fettsäure) kann bestimmt werden, indem die modifizierten Mikroorganismen oder die modifizierte Pflanze unter geeigneten Bedingungen (wie den vorstehend beschriebenen) gezüchtet werden und das Medium und/oder die zellulären Komponenten auf die erhöhte Produktion des gewünschten Produktes (d.h. von Lipiden oder einer Fettsäure) untersucht wird. Diese Analysetechniken sind dem Fachmann bekannt und umfassen Spektroskopie, Dünnschichtchromatographie, Färbeverfahren verschiedener Art, enzymatische und mikrobiologische Verfahren sowie analytische Chromatographie, wie Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (siehe beispielsweise Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 89-90 und S. 443-613, VCH: Weinheim (1985); Fallon, A., et al., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17; Rehm et al. (1993) Biotechnology, Bd. 3, Kapitel III: "Product recovery and purification", S. 469-714, VCH: Weinheim; Belter, P.A., et al. (1988) Bioseparations: downstream processing for Biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J.F., und Cabral, J.M.S. (1992) Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J.A., und Henry, J.D. (1988) Biochemical Separations, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. B3; Kapitel 11, S. 1-27, VCH: Weinheim; und Dechow, F.J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

Neben den oben erwähnten Verfahren werden Pflanzenlipide aus Pflanzenmaterial wie von Cahoon et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (22):12935-12940, und Browse et al. (1986) Analytic Biochemistry 152:141-145, beschrieben extrahiert. Die qualitative und quantitative Lipid- oder Fettsäureanalyse ist beschrieben bei Christie, William W., Advances in Lipid Methodology, Ayr/Scotland: Oily Press (Oily Press Lipid Library; 2); Christie, William W., Gas Chromatography and Lipids. A Practical Guide - Ayr, Scotland: Oily Press, 1989, Repr. 1992, IX, 307 S. (Oily Press Lipid Library; 1); "Progress in Lipid Research, Oxford: Pergamon Press, 1 (1952) - 16 (1977) u.d.T.: Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids CODEN.

Zusätzlich zur Messung des Endproduktes der Fermentation ist es auch möglich, andere Komponenten der Stoffwechselwege zu analysieren, die zur Produktion der gewünschten Verbindung verwendet werden, wie Zwischen- und Nebenprodukte, um die Gesamteffizienz der Produktion der Verbindung zu bestimmen. Die Analyseverfahren umfassen Messungen der Nährstoffmengen im Medium (z.B. Zucker, Kohlenwasserstoffe, Stickstoffquellen, Phosphat und andere Ionen), Messungen der Biomassezusammensetzung und des Wachstums, Analyse der Produktion üblicher Metabolite von Biosynthesewegen und Messungen von Gasen, die während der Fermentation erzeugt werden. Standardverfahren für diese Messungen sind in Applied Microbial Physiology; A Practical Approach, P.M. Rhodes und P.F. Stanbury, Hrsgb., IRL Press, S. 103-129; 131-163 und 165-192 (ISBN: 0199635773) und darin angegebenen Literaturstellen beschrieben.

Ein Beispiel ist die Analyse von Fettsäuren (Abkürzungen: FAME, Fettsäuremethylester; GC-MS, Gas-Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie; TAG, Triacylglycerin; TLC, Dünnschichtchromatographie).

5 Der unzweideutige Nachweis für das Vorliegen von Fettsäureprodukten kann mittels Analyse rekombinanter Organismen nach Standard-Analyseverfahren erhalten werden: GC, GC-MS oder TLC, wie verschiedentlich beschrieben von Christie und den Literaturstellen darin (1997, in: *Advances on Lipid Methodology*, Vierte Aufl.: Christie, Oily Press, Dundee, 119-169; 1998, *Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Verfahren*, Lipide 33:343-353).

10 Das zu analysierende Material kann durch Ultraschallbehandlung, Mahlen in der Glasmühle, flüssigen Stickstoff und Mahlen oder über andere anwendbare Verfahren aufgebrochen werden. Das Material muss nach dem Aufbrechen zentrifugiert werden. Das Sediment wird in Aqua dest. resuspendiert, 10 min bei 100°C erhitzt, auf Eis abgekühlt und erneut zentrifugiert, gefolgt von Extraktion in 0,5 M Schwefelsäure in
15 Methanol mit 2 % Dimethoxypropan für 1 Std. bei 90°C, was zu hydrolysierten Öl- und Lipidverbindungen führt, die transmethylierte Lipide ergeben. Diese Fettsäuremethylester werden in Petrolether extrahiert und schließlich einer GC-Analyse unter Verwendung einer Kapillarsäule (Chrompack, WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 Mikrom, 0,32 mm) bei einem Temperaturgradienten zwischen 170°C und 240°C für
20 20 min und 5 min bei 240°C unterworfen. Die Identität der erhaltenen Fettsäuremethylester muss unter Verwendung von Standards, die aus kommerziellen Quellen erhältlich sind (d.h. Sigma), definiert werden.

Pflanzenmaterial wird zunächst mechanisch durch Mörsern homogenisiert, um es einer Extraktion zugänglicher zu machen.

25 Dann wird 10 min auf 100°C erhitzt und nach dem Abkühlen auf Eis erneut sedimentiert. Das Zellsediment wird mit 1 M methanolischer Schwefelsäure und 2 % Dimethoxypropan 1h bei 90°C hydrolysiert und die Lipide transmethyliert. Die resultierenden Fettsäuremethylester (FAME) werden in Petrolether extrahiert. Die extrahierten FAME werden durch Gasflüssigkeitschromatographie mit einer Kapillarsäule (Chrompack,
30 WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 m, 0,32 mm) und einem Temperaturgradienten von 170°C auf 240°C in 20 min und 5 min bei 240°C analysiert. Die Identität der Fettsäuremethylester wird durch Vergleich mit entsprechenden FAME-Standards (Sigma) bestätigt. Die Identität und die Position der Doppelbindung kann durch geeignete chemische Derivatisierung der FAME-Gemische z.B. zu 4,4-Dimethoxyoxazolin-Derivaten (Christie, 1998) mittels GC-MS weiter analysiert werden.
35

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OmELO2 und pYES3-OmELO3 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

40 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 10 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester

ester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma).

Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 7: Funktionelle Charakterisierung von OmELO2 und OmELO3:

OmELO2 zeigt keine Elongase-Aktivität, während für OmELO3 eine deutliche Aktivität mit verschiedenen Substraten nachgewiesen werden konnte. Die Substratspezifität der OmELO3 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 2). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Alle transgene Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OmELO3-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OmELO3 funktional exprimiert werden konnte.

Figur 2 zeigt, dass die OmELO3 eine Substratspezifität aufweist, die mit hoher Spezifität zur Verlängerung von Δ5- und Δ6-Fettsäuren mit einer ω3-Doppelbindung führt. Es konnte in geringerer Spezifität des weiteren auch ω6-Fettsäuren (C18 und C20) elongiert werden. Stearidonsäure (C18:4 ω3) und Eicosapentaensäure (C20:5 ω3) stellen die besten Substrate für die OmELO3 dar (bis zu 66 % Elongation).

Beispiel 8: Rekonstitution der Synthese von DHA in Hefe

Die Rekonstitution der Biosynthese von DHA (22:6 ω3) wurde ausgehend von EPA (20:5 ω3) bzw. Stearidonsäure (18:4 ω3) durch die Coexpression der OmELO3 mit der Δ-4-Desaturase aus *Euglena gracilis* bzw. der Δ-5-Desaturase aus *Phaeodactylum tricornutum* und der Δ-4-Desaturase aus *Euglena gracilis* durchgeführt. Dazu wurden weiterhin die Expressionsvektoren pYes2-EgD4 und pESCLEu-PtD5 konstruiert. Der o.g. Hefestamm, der bereits mit dem pYes3-OmELO3 (SEQ ID NO: 55) transformiert ist, wurde weiter mit dem pYes2-EgD4 bzw. gleichzeitig mit pYes2-EgD4 und pESCLEu-PtD5 transformiert. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplett-

Minimalmedium-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Tryptophan und Uracil im Falle des pYes3-OmELO/pYes2-EgD4-Stammes und ohne Tryptophan, Uracil und Leucin im Falle des pYes3-OmELO/pYes2-EgD4+pESCLeu-PtD5-Stammes. Die Expression wurde wie oben angegeben durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 120 h bei 15°C inkubiert.

Figur 3 zeigt die Fettsäureprofile von transgenen Hefen, die mit 20:5 ω 3 gefüttert wurden. In der Kontroll-Hefe (A), die mit dem pYes3-OmElo3-Vektor und dem leeren Vektor pYes2 transformiert wurden, wurde 20:5 ω 3 sehr effizient zu 22:5 ω 3 elongiert (65% Elongation). Die zusätzliche Einführung der Eg Δ -4-Desaturase führte zu der Umsetzung von 22:5 ω 3 zu 22:6 ω 3 (DHA). Die Fettsäure-Zusammensetzung der transgenen Hefen ist in Figure 5 wiedergegeben. Nach die Co-Expression von OmElo3 und EgD4 konnte bis zu 3% DHA in Hefen nachgewiesen werden.

In einem weiteren Co-Expressionsexperiment wurden OmElo3, EgD4 und eine Δ 5-Desaturase aus *P. tricornutum* (PtD5) zusammen exprimiert. Die transgenen Hefen wurden mit Stearidonsäure (18:4 ω 3) gefüttert und analysiert (Figur 4). Die Fettsäure-Zusammensetzung dieser Hefen ist in Figur 5 aufgeführt. Durch OmElo3 wurde die gefütterte 18:4 ω 3 zu 20:4 ω 3 elongiert (60% Elongation). Letztere wurde durch die PtD5 zu 20:5 ω 3 desaturiert. Die Aktivität der PtD5 betrug 15%. 20:5 ω 3 konnte weiterhin durch die OmElo3 zu 22:5 ω 3 elongiert werden. Im Anschluß wurde die neu synthetisierte 22:5 ω 3 zu 22:6 ω 3 (DHA) desaturiert. In diesen Experimenten konnte bis zu 0,7% DHA erzielt werden.

Aus diesen Experimenten geht hervor, dass die in dieser Erfindung verwendeten Sequenzen OmElo3, EgD4 und PtD5 für die Produktion von DHA in eukaryotischen Zellen geeignet sind.

Beispiel 9: Erzeugung von transgenen Pflanzen

a) Erzeugung transgener Rapspflanzen (verändert nach Moloney et al., 1992, Plant Cell Reports, 8:238-242)

Zur Erzeugung transgener Rapspflanzen wurden binäre Vektoren in *Agrobacterium tumefaciens* C58C1:pGV2260 oder *Escherichia coli* genutzt (Deblaere et al, 1984, Nucl. Acids. Res. 13, 4777-4788). Zur Transformation von Rapspflanzen (Var. Drakkar, NPZ Nordeutsche Pflanzenzucht, Hohenlieth, Deutschland), wurde eine 1:50 Verdünnung einer Übernachtskultur einer positiv transformierten *Agrobacterien*kolonie in Murashige-Skoog Medium (Murashige und Skoog 1962 Physiol. Plant. 15, 473) mit 3 % Saccharose (3MS-Medium) benutzt. Petiolen oder Hypokotyledonen frisch gekeimter steriler Rapspflanzen (zu je ca. 1 cm²) wurden in einer Petrischale mit einer 1:50 *Agrobakterien*verdünnung für 5-10 Minuten inkubiert. Es folgt eine 3-tägige Colnkubation in Dunkelheit bei 25°C auf 3MS-Medium mit 0,8 % Bacto-Agar. Die Kultivierung wurde nach 3 Tagen mit 16 Stunden Licht / 8 Stunden Dunkelheit weitergeführt und in wöchentlichem Rhythmus auf MS-Medium mit 500 mg/l Claforan (Cefotaxime-Natrium), 50 mg/l Kanamycin, 20 mikroM Benzylaminopurin (BAP) und

1,6 g/l Glukose weitergeführt. Wachsende Sprosse wurden auf MS-Medium mit 2 % Saccharose, 250 mg/l Claforan und 0,8 % Bacto-Agar überführt. Bildeten sich nach drei Wochen keine Wurzeln, so wurde als Wachstumshormon 2-Indolbuttersäure zum Bewurzeln zum Medium gegeben.

- 5 Regenerierte Sprosse wurden auf 2MS-Medium mit Kanamycin und Claforan erhalten, nach Bewurzelung in Erde überführt und nach Kultivierung für zwei Wochen in einer Klimakammer oder im Gewächshaus angezogen, zur Blüte gebracht, reife Samen geerntet und auf Elongase-Expression wie Δ -5-Elongase- oder Δ -6-Elongaseaktivität oder ω -3-Desaturaseaktivität mittels Lipidanalysen untersucht. Linien mit erhöhten
- 10 Gehalten an C20- und C22 mehrfachungesättigten Fettsäuren wurden so identifiziert.

b) Herstellung von transgenen Leinpflanzen

- 15 Die Herstellung von transgenen Leinpflanzen können zum Beispiel nach der Methode von Bell et al., 1999, In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 35(6):456-465 mittels particle bombardment erzeugt werden. Agrobakterien-vermittelte Transformationen können zum Beispiel nach Mlynarova et al. (1994), Plant Cell Report 13: 282-285 hergestellt werden.

Beispiel 10: Klonierung von Δ 5-Elongase-Genen aus *Thraustochytrium aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp.

- 20 Durch Vergleiche der verschiedenen in dieser Anmeldung gefundenen Elongase-Proteinsequenzen konnten konservierte Nukleinsäurebereiche definiert werden (Histidin-Box: His-Val-X-His-His, Tyrosin-Box: Met-Tyr-X-Tyr-Tyr). Mit Hilfe dieser Sequenzen wurde eine EST-Datenbank von *T. aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp. nach weiteren Δ -5-Elongasen durchsucht. Folgende neue Sequenzen konnten gefunden werden:

Gen-Name	Nukleotide	Aminosäuren
BioTaurELO1	828 bp	275
TL16y2	831	276

- 25 Gesamt-RNA von *T. aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp. wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe des PolyAtract Isolierungssystems (Promega) mRNA isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA Amplification-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend der Herstellerangaben Adaptoren ligiert. Die cDNA-
- 30 Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

Beispiel 11: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Primer	Nukleotidsequenz
5' f* BioTaurELO1	5' gacataatgacgagcaacatgag (SEQ ID NO: 170)
3' r* BioTaurELO1	5' cggcttaggccgacttggccttggg (SEQ ID NO: 171)
5'f*TL16y2	5' agacataatggacgtcgtcgagcagcaatg (SEQ ID NO: 172)
3'r*TL16y2	5' ttagatgggtcttctgcttcttgggccc (SEQ ID NO: 173)

5 * f: forward, r: reverse

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂

10 5,00 µL 2mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL pfu-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurde eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

15 Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

20 Die PCR Produkte BioTaurELO1 (siehe SEQ ID NO: 65) und TL16y2 (siehe SEQ ID NO: 83) wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor pYES2.1-TOPO (Invitrogen) inkubiert gemäss Herstellerangaben. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) in den Vektor ligiert. Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von E. coli DH5α Zellen.

Entsprechende Klone wurden durch PCR identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert.

25 Anschließend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wachstumsfähig waren, 30 enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-BioTaurELO1 und pYES2.1-TL16y2. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

90

Beispiel 12: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- 5 Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende des kodierenden Sequenz eingefügt:

PSUN-BioTaurELO1

Forward: 5'-GCGGCCGCGCATAATGACGAGCAACATGAGC (SEQ ID NO: 166)

- 10 Reverse: 3'-GCGGCCGCTTAGGCCGACTTGGCCTTGGG (SEQ ID NO: 167)

PSUN-TL16y2

Forward: 5'-GCGGCCGCGACCATGGACGTCGTCGAGCAGCAATG (SEQ ID NO: 168)

- 15 Reverse: 5'-GCGGCCGCTTAGATGGTCTTCTGCTTCTTGGGCGCC (SEQ ID NO: 169)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂

5,00 µL 2mM dNTP

- 20 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

- 25 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

- 30 Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert.
- 35 Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-BioTaurELO1 und pSUN-TL16y2 wurden durch Sequenzierung verifiziert.

- 40 pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P, Svab, Z, Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das

- Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem *A. tumefaciens* Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz: 5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 165). Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 13: Funktionelle Charakterisierung von BioTaurELO1 und TL16y2:

- Die Substratspezifität der BioTaurELO1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 6). Figur 6 zeigt die Fütterungsexperimente zur Bestimmung der Funktionalität und Substratspezifität mit Hefestämmen, die entweder den Vektor pYes2.1 (Kontrolle = Control) oder den Vektor pYes2.1-BioTaurELO1 (= BioTaur) mit der Δ -5-Elongase enthalten. In beiden Ansätzen wurde 200 μ M γ -Linolensäure und Eicosapentaensäure dem Hefeinkubationsmedium zugesetzt und 24 h inkubiert. Nach Extraktion der Fettsäuren aus den Hefen wurden diese transmethyliert und gaschromatographisch aufgetrennt. Die aus den beiden gefütterten Fettsäuren entstandenen Elongationsprodukte sind durch Pfeile markiert.
- Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Alle transgene Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der BioTaurELO1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen BioTaurELO1 funktional exprimiert werden konnte.
- Figur 6 zeigt, dass die BioTaurELO1 eine Substratspezifität aufweist, die mit hoher Spezifität zur Verlängerung von Δ 5- und Δ 6-Fettsäuren mit einer ω 3-Doppelbindung führt. Des weiteren konnten auch ω 6-Fettsäuren (C18 und C20) elongiert werden. Es werden γ -Linolensäure (C18:3 ω 6) mit 65,28 %, Stearidonsäure (C18:4 ω 3) mit 65,66 % und Eicosapentaensäure (C20:5 ω 3) mit 22,01 % Konversion umgesetzt. Die Substratspezifitäten der verschiedenen Fütterungsexperimente sind in Tabelle 2 dargestellt (siehe am Ende der Beschreibung).

- Die Konversionsrate von GLA bei Fütterung von GLA und EPA betrug 65,28 %. Die Konversionsrate von EPA bei gleicher Fütterung von GLA und EPA betrug 9,99 %. Wurde nur EPA gefüttert, so betrug die Konversionsrate von EPA 22,01 %. Auch Arachidonsäure (= ARA) wurde bei Fütterung umgesetzt. Die Konversionsrate betrug 14,47 %. Auch Stearidonsäure (= SDA) wurde umgesetzt. In diesem Fall betrug die Konversionsrate 65,66 %.

- Die Funktionalität und Substratspezifität von TL16y2 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden. Tabelle 3 zeigt die Fütterungsexperimente. Die Fütterungsversuche wurden in gleicherweise durchgeführt wie für BioTaurELO1 beschrieben. Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TL16y2-Reaktion (Fig. 11). Dies bedeutet, dass das Gen TL16y2 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 3: Expression von TL16y2 in Hefe.

Flächen der gaschromatographischen Analyse in %									
Plasmid	Fettsäure	C18:3 (n-6)	C18:4 (n-3)	C20:3 (n-6)	C20:4 (n-6)	C20:4 (n-3)	C20:5 (n-3)	C22:4 (n-6)	C22:5 (n-3)
pYES	250 uM EPA						13,79		
TL16y2	250 uM EPA						25,81		2,25
pYES	50 uM EPA						5,07		
TL16y2	50 uM EPA						2,48		1,73
pYES	250 uM GLA	8,31							
TL16y2	250 uM GLA	3,59		10,71					
pYES	250 uM ARA				16,03				
TL16y2	250 uM ARA				15,2		3,87		
pYES	250 uM SDA		26,79			0,35			
TL16y2	250 uM SDA		7,74			29,17			

Die in Tabelle 3 wiedergegebenen Ergebnisse zeigen mit TL16y2 gegenüber der Kontrolle folgende prozentuale Umsätze: a) % Umsatz EPA (250 uM): 8 %, b) %

Umsatz EPA (50 μ M): 41 %, c) % Umsatz ARA: 20,3 %, d) % Umsatz SDA: 79, 4% und e) % Umsatz GLA: 74,9 %.

5 TL16y2 zeigt damit Δ 5-, Δ 6- und Δ 8-Elongaseaktivität. Dabei ist die Aktivität für C18-Fettsäuren mit Δ 6-Doppelbindung am höchsten. Abhängig von der Konzentration an gefütterten Fettsäuren werden dann C20-Fettsäuren mit einer Δ 5- bzw. Δ 8-Doppelbindung verlängert.

Beispiel 14: Klonierung von Genen aus *Ostreococcus tauri*

10 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit Δ -5-Elongaseaktivität oder Δ -6-Elongaseaktivität konnten zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Ostreococcus tauri* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
OtELO1, (Δ -5-Elongase)	SEQ ID NO: 67	300
OtELO2, (Δ -6-Elongase)	SEQ ID NO: 69	292

15 OtElo1 weist die höchste Ähnlichkeit zu einer Elongase aus *Danio rerio* auf (GenBank AAN77156; ca. 26 % Identität), während OtElo2 die größte Ähnlichkeit zur *Physcomitrella Elo* (PSE) [ca. 36 % Identität] aufweist (Alignments wurden mit dem tBLASTn-Algorithmus (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215: 403 – 410) durchgeführt.

Die Klonierung wurde wie folgt durchgeführt:

20 40 ml einer *Ostreococcus tauri* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100 μ l Aqua bidest resuspendiert und bei -20°C gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der OtElo-DNAs wurde jeweils mit 1 μ l aufgetauten Zellen, 200 μ M dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem
25 Gesamtvolumen von 50 μ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

30 Beispiel 15: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

Zur Charakterisierung der Funktion der Elongasen aus *Ostreococcus tauri* wurden die offenen Leserahmen der jeweiligen DNAs stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei pOTE1 und pOTE2 erhalten wurden.

Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pOTE1 bzw. pOTE2 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Für die Expression der Ot-Elongasen wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert.

5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD₆₀₀ von 0,05 angeimpft. Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel 16: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen wurden von den 5'- und 3-Bereich von OtElo1 und OtElo2 abgeleitet.

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂
5,00 µL 2mM dNTP
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.
Reaktionsbedingungen der PCR:
Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
Elongationstemperatur: 2 min 72°C
Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-OtELO1 und pSUN-OtELO2 wurde durch Sequenzierung verifiziert.

pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of *Agrobacterium* binary vectors for plant transformation. *Plant Mol Biol* 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des *Ostreococcus*-Gens aus dem *A. tumefaciens* Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid-encoded octopine synthase gene *J. Mol. Appl. Genet.* 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels künstlichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz:

5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 164).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Beispiel 17: Expression von OtELO1 und OtELO2 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 15 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OtELO1 und pYES3-OtELO2 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch.*

Biochem. Biophys. 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, FEBS Letters. 439(3):215-218.

Beispiel 18: Funktionelle Charakterisierung von OtELO1 und OtELO2:

- 5 Die Substratspezifität der OtElo1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab.4). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OtElo1 funktional exprimiert werden konnte.

- 10 Tabelle 4 zeigt, dass die OtElo1 eine enge Substratspezifität aufweist. Die OtElo1 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure (Figur 7) und Arachidonsäure (Figur 8) elongieren, bevorzugte aber die ω -3-desaturierte Eicosapentaensäure.

Tabelle 4:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
16:0	-
16:1 ^{Δ9}	-
18:0	-
18:1 ^{Δ9}	-
18:1 ^{Δ11}	-
18:2 ^{Δ9,12}	-
18:3 ^{Δ6,9,12}	-
18:3 ^{Δ5,9,12}	-
20:3 ^{Δ8,11,14}	-
20:4 ^{Δ5,8,11,14}	10,8 ± 0,6
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	46,8 ± 3,6
22:4 ^{Δ7,10,13,16}	-
22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	-

Tabelle 4 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo1 für C20 polyungesättigte Fettsäuren mit einer Doppelbindung in $\Delta 5$ Position gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

5 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert ($n=3$) \pm Standardabweichung wieder.

10 Die Substratspezifität der OtElo2 (SEQ ID NO: 81) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 5). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo2-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OtElo2 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 5:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
16:0	-
16:1 Δ^9	-
16:3 $\Delta^{7,10,13}$	-
18:0	-
18:1 Δ^6	-
18:1 Δ^9	-
18:1 Δ^{11}	-
18:2 $\Delta^{9,12}$	-
18:3 $\Delta^{6,9,12}$	15,3 \pm
18:3 $\Delta^{5,9,12}$	-
18:4 $\Delta^{6,9,12,15}$	21,1 \pm
20:2 $\Delta^{11,14}$	-
20:3 $\Delta^{8,11,14}$	-
20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$	-
20:5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$	-
22:4 $\Delta^{7,10,13,16}$	-
22:5 $\Delta^{7,10,13,16,19}$	-
22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$	-

Tabelle 5 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo2 gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

- Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE2 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert ($n=3$) \pm Standardabweichung wieder.

Die enzymatische Aktivität, die in Tabelle 5 wiedergegeben wird, zeigt klar, dass OTEL2 eine Δ -6-Elongase ist.

- 10 Beispiel 19: Klonierung von Genen aus *Thalassiosira pseudonana*

- Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit Δ -5-Elongaseaktivität oder Δ -6-Elongaseaktivität konnten zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Thalassiosira pseudonana* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
TpELO1 (Δ 5-Elongase)	43	358
TpELO2 (Δ 5-Elongase)	59	358
TpELO3 (Δ 6-Elongase)	45	272

- Eine 2 L Kultur von *T. pseudonana* wurde in f/2 Medium (Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In *Culture of Marine Invertebrate Animals* (Eds. Smith, W.L. and Chanley, M.H.), Plenum Press, New York, pp 29–60.) für 14 d (= Tage) bei einer Lichtstärke von 80 E/cm² angezogen. Nach Zentrifugation der Zellen wurde RNA mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Quiagen (Valencia, CA, US) nach Herstellerangaben isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA Amplification-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend den Herstellerangaben Adaptoren ligiert. Die cDNA-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

- Beispiel 20: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in - Hefen

- Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der TpElo-DNAs wurde jeweils mit 1 μ L cDNA, 200 μ M dNTPs, 2,5 U *Advantage*-Polymerase und 100 pmol eines jeden

Primers in einem Gesamtvolumen von 50 µl durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

- 5 Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Gen-Name und SEQ ID NO:	Primersequenz
TpELO1 ($\Delta 5$ -Elongase), SEQ ID NO: 59	F:5'-accatgtgctcaccaccgccgtc (SEQ ID NO: 158) R:5'- ctacatggcaccagtaac (SEQ ID NO: 159)
TpELO2 ($\Delta 5$ -Elongase), SEQ ID NO: 85	F:5'-accatgtgctcatcaccgcccgc (SEQ ID NO: 160) R:5'-ctacatggcaccagtaac (SEQ ID NO: 161)
TpELO3 ($\Delta 6$ -Elongase), SEQ ID NO:45	F:5'-accatggacgcctacaacgcgctgc (SEQ ID NO: 162) R:5'- ctaagcactcttcttcttt (SEQ ID NO: 163)

*F=forward primer, R=reverse primer

- Die PCR Produkte wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor - pYES2.1-TOPO (Invitrogen) gemäß Herstellerangaben inkubiert. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) in den Vektor ligiert. Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von E. coli DH5 α Zellen. Entsprechende Klone wurden durch PCR identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert. Anschließend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-TpELO1, pYES2.1-TpELO2 und pYES2.1-TpELO3. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

100

Beispiel 21: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt.

PSUN-TPELO1

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGTGCTCACCACCGCCGTC (SEQ ID NO: 152)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTACATGGCACCAGTAAC (SEQ ID NO: 153)

PSUN-TPELO2

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGTGCTCATCACCAGCCGTC (SEQ ID NO: 154)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTACATGGCACCAGTAAC (SEQ ID NO: 155)

PSUN-TPELO3

Forward: 5'-GCGGCCGCacccatggacgcctacaacgctgc (SEQ ID NO: 156)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTAAGCACTCTTCTTCTTT (SEQ ID NO: 157)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂

5,00 µL 2mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert.

Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-TPELO1, pSUN-TPELO2 und pSUN-TPELO3 wurde durch Sequenzierung verifiziert.

pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of *Agrobacterium* binary vectors for plant transformation. *Plant Mol Biol* 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem *A. tumefaciens* Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid-encoded octopine synthase gene *J. Mol. Appl. Genet.* 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert.

(Primersequenz: 5'-

GTCTGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3'; SEQ ID NO: 151).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 22: Expression von TpELO1, TpELO2 und TpELO3 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2, pYES2-TpELO1, pYES2-TpELO2 und pYES2-TpELO3 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch.*

- 5 Biochem. Biophys. 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 23: Funktionelle Charakterisierung von TpELO1 und TpELO3:

- 10 Die Substratspezifität der TpElo1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 9). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TpElo1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen TpElo1 funktional exprimiert werden konnte.

- 15 Tabelle 6 zeigt, dass die TpElo1 eine enge Substratspezifität aufweist. Die TpElo1 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure und Arachidonsäure elongieren, bevorzugte aber die ω -3-desaturierte Eicosapentaensäure.

Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-TpELO1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

- 20 Tabelle 6: Expression von TpELO1 in Hefe. In den Spalten 1 und 3 sind die Kontrollreaktionen für die Spalten 2 (gefüttert 250 μ M 20:4 Δ 5,8,11,14) und 4 (gefüttert 250 μ M 20:5 Δ 5,8,11,14,17) wiedergegeben.

	Expression	Expression	Expression	Expression
Fettsäuren	1	2	3	4
16:0	18.8	17.8	25.4	25.2
16:1 ^{Δ9}	28.0	29.8	36.6	36.6
18:0	5.2	5.0	6.8	6.9
18:1 ^{Δ9}	25.5	23.6	24.6	23.9
20:4 ^{Δ5,8,11,14}	22.5	23.4	-	-
22:4 ^{Δ7,10,13,16}	-	0.4	-	-
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	-	-	6.6	6.5
22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	-	-	-	0.9
% Umsatz	0	1.7	0	12.2

103

Die Substratspezifität der TpElo3 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 10). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TpElo3-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen TpElo3 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 7 zeigt, dass die TpElo3 eine enge Substratspezifität aufweist. Die TpElo3 konnte nur die C18-Fettsäuren γ -Linolensäure und Stearidonsäure elongieren, bevorzugte aber die ω -3-desaturierte Stearidonsäure.

Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-TpELO3 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Tabelle 7: Expression von TpELO3 in Hefe. Spalte 1 zeigt das Fettsäureprofil von Hefe ohne Fütterung. Spalte 2 zeigt die Kontrollreaktion. In den Spalten 3 bis 6 wurden γ -Linolensäure, Stearidonsäure, Arachidonsäure und Eicosapentaensäure gefüttert (250 μ M jeder Fettsäure).

Fettsäuren	1	2	3	4	5	6
16:0	17.9	20.6	17.8	16.7	18.8	18.8
16:1 ^{Δ^9}	41.7	18.7	27.0	33.2	24.0	31.3
18:0	7.0	7.7	6.4	6.6	5.2	6.0
18:1 ^{Δ^9}	33.3	16.8	24.2	31.8	25.5	26.4
18:2 ^{$\Delta^9,12$}	-	36.1	-	-	-	-
18:3 ^{$\Delta^6,9,12$}	-	-	6.1	-	-	-
18:4 ^{$\Delta^6,9,12,15$}	-	-	-	1.7	-	-
20:2 ^{$\Delta^{11,14}$}	-	0	-	-	-	-
20:3 ^{$\Delta^{8,11,14}$}	-	-	18.5	-	-	-
20:4 ^{$\Delta^{8,11,14,17}$}	-	-	-	10.0	-	-
20:4 ^{$\Delta^{5,8,11,14}$}	-	-	-	-	22.5	-
22:4 ^{$\Delta^{7,10,13,16}$}	-	-	-	-	0	-
20:5 ^{$\Delta^{5,8,11,14,17}$}	-	-	-	-	-	17.4
22:5 ^{$\Delta^{7,10,13,16,19}$}	-	-	-	-	-	0
% Umsatz	0	0	75	85	0	0

104

Beispiel 24: Klonierung eines Expressionsplasmides zur heterologen Expression der Pi-omega3Des in Hefen

Der Pi-omega3Des Klon wurde für die heterologe Expression in Hefen über PCR mit entsprechenden Pi-omega3Des spezifischen Primern in den Hefe-Expressionsvektor pYES3 kloniert. Dabei wurde ausschließlich der für das Pi-omega3Des Protein kodierende offene Leseraster des Gens amplifiziert und mit zwei Schnittstellen für die Klonierung in den pYES3 Expressionsvektor versehen:

Forward Primer: 5'-TAAGCTTACATGGCGACGAAGGAGG (SEQ ID NO: 149)
Reverse Primer: 5'-TGGATCCACTTACGTGGACTTGGT (SEQ ID NO: 150)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂
5,00 µL 2mM dNTP
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL des 5'-ATG sowie des 3'-Stopp Primers)
0,50 µL Advantage-Polymerase
Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
Elongationstemperatur: 2 min 72°C
Anzahl der Zyklen: 35

Das PCR Produkt wurde für 2 h bei 37 °C mit den Restriktionsenzymen HindIII und BamHI inkubiert. Der Hefe-Expressionsvektor pYES3 (Invitrogen) wurde in gleicherweise inkubiert. Anschließend wurde das 1104 bp große PCR Produkt sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel purification Kit gemäß Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und Desaturase-cDNA ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Das entstandene Plasmid pYES3-Pi-omega3Des wurde durch Sequenzierung überprüft und in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde pYES3 parallel transformiert. Anschliessend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Tryptophan mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die auf ohne Tryptophan im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES3, pYES3-Pi-omega3Des. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

105

Beispiel 25: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-

- 5 Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt:
PSUN-Pi-omega3Des

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTACGTGGACTTGGTC (SEQ ID NO: 147)

Forward: 5'-GCGGCCGCGatGGCGACGAAGGAGG (SEQ ID NO: 148)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 10 5,00 µL Template cDNA
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂
5,00 µL 2mM dNTP
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
0,50 µL Advantage-Polymerase
15 Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

- 20 Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte wurden für 4 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert.

- 25 Anschließend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Das entstandene Plasmid pSUN-Piomega3Des wurde durch Sequenzierung verifiziert.

Beispiel 26: Expression von Pi-omega3Des in Hefen

- 30 Hefen, die wie unter Beispiel 24 mit dem Plasmid pYES3 oder pYES3- Pi-omega3Des transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethyl-

ester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert. Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 27: Funktionelle Charakterisierung von Pi-omega3Des:

Die Substratspezifität der Pi-omega3Des konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 12 bis 18). Die gefütterten Substrate liegen in großen Mengen in allen transgenen Hefen vor, wodurch die Aufnahme dieser Fettsäuren in die Hefen bewiesen ist. Die transgenen Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der Pi-omega3Des-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen Pi-omega3Des funktional exprimiert werden konnte.

Figur 12 gibt die Desaturierung von Linolsäure (18:2 ω-6-Fettsäure) zu α-Linolensäure (18:3 ω-3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 12 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 12 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C18:2^{Δ9,12}-Fettsäure (300 µM) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

In Figur 13 ist die Desaturierung von γ-Linolensäure (18:3 ω-6-Fettsäure) zu Stearidonsäure (18:4 ω-3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des wiedergegeben. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 13 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 13 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von γ-C18:3^{Δ6,9,12}-Fettsäure (300 µM) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 14 gibt die Desaturierung von C20:2- ω -6-Fettsäure zu C20:3- ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 14 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 14 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:2 $^{\Delta 11,14}$ -Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 15 gibt die Desaturierung von C20:3- ω -6-Fettsäure zu C20:4- ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 15 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 15 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:3 $^{\Delta 8,11,14}$ -Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

In Figur 16 wird die Desaturierung von Arachidonsäure (C20:4- ω -6-Fettsäure) zu Eicosapentaensäure (C20:5- ω -3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des gezeigt. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 16 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 16 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:4 $^{\Delta 5,8,11,14}$ -Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 17 gibt die Desaturierung von Docosatetraensäure (C22:4- ω -6-Fettsäure) zu Docosapentaensäure (C22:5- ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 17 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 17 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C22:4 $^{\Delta 7,10,13,16}$ -Fettsäure (300 μ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Die Substratspezifität der Pi-omega3Des gegenüber verschiedenen Fettsäuren ist Figur 18 zu entnehmen. Die Hefen, die mit dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt einen Mittelwert aus drei Messungen wieder. Die Umsetzungsraten (% Desaturation) wurden mit der Formel:
[Produkt]/([Produkt]+[Substrat])*100 errechnet.

Wie unter Beispiel 9 beschrieben kann auch die Pi-omega3Des zur Erzeugung transgener Pflanzen verwendet werden. Aus den Samen dieser Pflanzen kann dann die Lipidextraktion wie unter Beispiel 6 beschrieben erfolgen.

Beispiel 28: Klonierung von Desaturasegenen aus *Ostreococcus tauri*

- 5 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe von konservierten Motiven (His-Boxen, Domergue et al. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113) konnten sieben Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Ostreococcus tauri* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren	Homologie
OtD4	SEQ ID NO: 95	536	Δ -4-Desaturase
OtD5.1	SEQ ID NO: 91	201	Δ -5-Desaturase
OtD5.2	SEQ ID NO: 93	237	Δ -5-Desaturase
OtD6.1	SEQ ID NO: 89	456	Δ -6-Desaturase
OtFad2	SEQ ID NO: 107	361	Δ -12-Desaturase

Die Alignments zur Auffindung von Homologien der einzelnen Gene wurden mit dem tBLASTn-Aalgorithmus (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215: 403 – 410) durchgeführt.

Die Klonierung erfolgte wie folgt:

- 15 40 ml einer *Ostreococcus tauri* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100 μ l Aqua bidest resuspendiert und bei -20°C gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon
- 20 trugen. Die Amplifizierung der OtDes-DNAs wurde jeweils mit 1 μ l aufgetauten Zellen, 200 μ M dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 μ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30
- 25 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

Folgende Primer wurden für die PCR eingesetzt:

OtDes6.1 Forward: 5'ggtaccacataatgtgcgtggagacggaaaataacg3' (SEQ ID NO: 145)
 OtDes6.1 Reverse: 5'ctcgagttacccgtcttccggagtgttgcc3' (SEQ ID NO: 146)

109

Beispiel: 29 Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

5 Zur Charakterisierung der Funktion der Desaturase OtDes6.1 (= Δ -6-Desaturase) aus *Ostreococcus tauri* wurde der offene Leserahmen der DNA stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei der entsprechenden pYES2.1-OtDes6.1 Klon erhalten wurde. In entsprechender Art und Weise können weitere Desaturase-Gene aus *Ostreococcus* kloniert werden.

10 Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pYES2.1-OtDes6.1 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

15 Für die Expression der OtDes6.1 Desaturase wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert. 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 μ M verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD₆₀₀ von 0,05 angeimpft.

20 Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel: 30 Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

25 Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu werden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen werden von den 5'- und 3-Bereich der Desaturasen abgeleitet.

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 μ L):

5,00 μ L Template cDNA

30 5,00 μ L 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂

5,00 μ L 2mM dNTP

1,25 μ L je Primer (10 pmol/ μ L)

0,50 μ L Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

5 Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert.

10 Anschliessend werden die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgt mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend werden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide werden durch Sequenzierung verifiziert.

15 pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Ostreococcus-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., 20 Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. 25 (Primersequenz: 5'-

GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 144).

30 Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von Arabidopsis thaliana, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Beispiel: 31 Expression von OtDes6.1 in Hefen

35 Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2 und pYES2-OtDes6.2 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel: 32 Funktionelle Charakterisierung von Desaturasen aus *Ostreococcus*:

Die Substratspezifität von Desaturasen kann nach Expression in Hefe (siehe Beispiele Klonierung von Desaturase-Genen, Hefeexpression) durch die Fütterung mittels verschiedener Hefen ermittelt werden. Beschreibungen für die Bestimmung der einzelnen Aktivitäten finden sich in WO 93/11245 für Δ15-Desaturasen, WO 94/11516 für Δ12-Desaturasen, WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, WO0021557 und WO 99/27111 für Δ6-Desaturasen, Qiu et al. 2001, *J. Biol. Chem.* 276, 31561-31566 für Δ4-Desaturasen, Hong et al. 2002, *Lipids* 37,863-868 für Δ5-Desaturasen.

Tabelle 8 gibt die Substratspezifität der Desaturase OtDes6.1 gegenüber verschiedenen Fettsäuren wieder. Die Substratspezifität der OtDes6.1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden. Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtDes6.2-Reaktion (Fig. 20). Dies bedeutet, dass das Gen OtDes6.1 funktional exprimiert werden konnte.

112

Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-OtDes6.1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert ($n=3$) \pm Standardabweichung wieder. Die Aktivität entspricht der Konversionsrate errechnet nach $[\text{Substrat}/(\text{Substrat}+\text{Produkt}) \cdot 100]$.

Tabelle 8 zeigt, dass die OtDes6.1 eine Substratspezifität für Linol- und Linolensäure (18:2 und 18:3) aufweist, da mit diesen Fettsäuren die höchsten Aktivitäten erreicht werden. Die Aktivität für Ölsäure (18:1) und Palmitoleinsäure (16:1) ist dagegen deutlich geringer. Die bevorzugte Umsetzung von Linol- und Linolensäure zeigt die Eignung dieser Desaturase für die Herstellung von polyungesättigten Fettsäuren.

Substrate	Aktivität in %
16:1 ^{Δ^9}	5,6
18:1 ^{Δ^9}	13,1
18:2 ^{$\Delta^{9,12}$}	68,7
18:3 ^{$\Delta^{9,12,15}$}	64,6

Figur 20 zeigt die Umsetzung von Linolsäure durch OtDes6.1. Die Analyse der FAMES erfolgte über Gaschrommatographie. Das gefütterte Substrat (C18:2) wird zu γ -C18:3 umgesetzt. Sowohl Edukt als auch das entstandene Produkt sind durch Pfeile markiert.

In Figur 21 wird die Umsetzung von Linolsäure (= LA) und α -Linolensäure (= ALA) in Gegenwart von OtDes6.1 zu γ -Linolensäure (= GLA) bzw. Stearidonsäure (= STA) wiedergegeben (Figur 21 A und C). Weiterhin zeigt Figur 21 die Umsetzung von Linolsäure (= LA) und α -Linolensäure (= ALA) in Gegenwart der Δ -6-Desaturase OtDes6.1 zusammen mit der Δ -6-Elongase PSE1 aus *Physcomitrella patens* (Zank et al. 2002, Plant J. 31:255-268) und der Δ -5-Desaturase PtD5 aus *Phaeodactylum tricornutum* (Doimergue et al. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113) zu Dihomo- γ -linolensäure (= DHGLA) und Arachidonsäure (= ARA, Figur 21 B) bzw. zu Dihomostearidonsäure (= DHSTA) bzw. Eicosapentaensäure (= EPA, Figur 21 D). Figur 21 zeigt deutlich, dass die Reaktionsprodukte GLA und STA der Δ -6-Desaturase OtDes6.1 in Gegenwart der Δ -6-Elongase PSE1 fast quantitativ zu DHGLA bzw. DHSTA elongiert wird. Die nachfolgende Desaturierung durch die Δ -5-Desaturase PtD5 erfolgt ebenfalls reibungslos zu ARA bzw. EPA. Es werden ca. 25 – 30% des Elongaseprodukts desaturiert (Figur 21 B und D).

Die folgenden Tabelle 9 gibt eine Übersicht über die klonierten *Ostreococcus* Desaturasen wieder:

<u>Ostreococcus tauri Desaturasen</u>							
Name	bp	aa	Homologie	Cyt. B5	His-Box1	His-Box2	His-Box3
OtD4	1611	536	Δ -4- Desaturase	HPGG	HCANH	WRYHHQVSHH	QVEHHLFP
OtD5.1	606	201	Δ -5- Desaturase	-	-	-	QVVHHLFP
OtD5.2	714	237	Δ -5- Desaturase	-	-	WRYHHMVSHH	QIEHHLFP
OtD6.1	1443	480	Δ -6- Desaturase	HPGG	HEGGH	WNSMHNKHH	QVIHHLFP
OtFAD2	1086	361	Δ -12- Desaturase	-	HECGH	WQRSHAVHH	HVAHH

Beispiel : 33 Klonierung von Desaturasegenen aus *Thalassiosira pseudonana*

- 5 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe von konservierten Motiven (His-Boxen, siehe Motive) konnten sieben Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Thalassiosira pseudonana* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren	Homologie
TpD4	SEQ ID NO: 103	503	Δ -4-Desaturase
TpD5-1	SEQ ID NO: 99	476	Δ -5-Desaturase
TpD5-2	SEQ ID NO: 101	482	Δ -5-Desaturase
TpD6	SEQ ID NO: 97	484	Δ -6-Desaturase
TpFAD2	SEQ ID NO: 109	434	Δ -12-Desaturase
TpO3	SEQ ID NO: 105	418	ω -3-Desaturase

10

Die Klonierung erfolgte wie folgt:

40 ml einer *Thalassiosira pseudonana* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100 μ l Aqua bidest resuspendiert und bei -20°C gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die

entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der TpDes-DNAs wurde jeweils mit 1 µl aufgetauten Zellen, 200 µM dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 µl durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

10 Beispiel: 34 Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

Zur Charakterisierung der Funktion der Desaturasen aus *Thalassiosira pseudonana* wird der offene Leserahmen der jeweiligen DNA stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei der entsprechenden pYES2.1-Klone erhalten werden.

15 Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wird durch Elektroporation (1500 V) mit den Vektoren pYES2.1-TpDesaturasen transformiert. Als Kontrolle wird eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wird. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgt auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion werden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Für die Expression der Tp-Desaturasen werden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert.

25 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren werden dann mit den Vorkulturen auf eine OD₆₀₀ von 0,05 angeimpft. Die Expression wird durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen werden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel: 35 Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

30 Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu werden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen werden von den 5'- und 3-Bereich der Desaturasen abgeleitet.

115

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
- 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂
- 5,00 µL 2mM dNTP
- 5 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
- 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
- 10 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- Elongationstemperatur: 2 min 72°C
- Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert.

- 15 Anschliessend werden die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgt mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend werden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide
- 20 werden durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P, Svab, Z, Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des OCS-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden
- 25 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz: 5'-
 - 30 GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
 - 35 GGATCTGCTGGCTATGAA-3'; SEQ ID NO: 143)

116

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

5 Beispiel: 36 Expression von Tp-Desaturasen in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2 und pYES2-TpDesaturasen transformiert werden, werden folgendermaßen analysiert:

10 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen werden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten werden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu werden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren werden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. 15 gewaschen. Anschließend werden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben werden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für 20 die GLC-Analyse sind wie folgt: Die Ofentemperatur wird von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

25 Die Identifikation der Signale erfolgt durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel: 37 Funktionelle Charakterisierung von Desaturasen aus *Thalassiosira pseudonana*:

30 Die Substratspezifität von Desaturasen kann nach Expression in Hefe (siehe Beispiele Klonierung von Desaturase-Genen, Hefeexpression) durch die Fütterung mittels verschiedener Hefen ermittelt werden. Beschreibungen für die Bestimmung der einzelnen Aktivitäten finden sich in WO 93/11245 für Δ¹⁵-Desaturasen, WO 94/11516 für Δ¹²-Desaturasen, WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, 35 WO0021557 und WO 99/27111 für Δ⁶-Desaturasen, Qiu et al. 2001, *J. Biol. Chem.* 276, 31561-31566 für Δ⁴-Desaturasen, Hong et al. 2002, *Lipids* 37,863-868 für Δ⁵-Desaturasen.

117

Die Aktivität der einzelnen Desaturasen wird aus der Konversionsrate errechnet nach der Formel $[\text{Substrat}/(\text{Substrat}+\text{Produkt}) \cdot 100]$.

Die folgenden Tabellen 10 und 11 geben eine Übersicht über die clonierten *Thalassiosira pseudonana* Desaturasen wieder.

- 5 Tabelle 10: Länge und charakteristische Merkmale der clonierten *Thalassiosira* Desaturasen.

Desaturase	cDNA (bp)	Protein (aa)	Cyt. B5	His-Box1	His-Box2	His-Box3
TpD4	1512	503	HPGG	HDGNH	WELQHMLGHH	QIEHHLFP
TpD5-1	1431	476	HPGG	HDANH	WMAQHWTHH	QVEHHLFP
TpD5-2	1443	482	HPGG	HDANH	WLAQHWTHH	QVEHHLFP
TpD6	1449	484	HPGG	HDFLH	WKNKHNGHH	QVDHHLFP
TpFAD2 (d12)	1305	434	-	HECGH	HAKHH	HVAHHLFH
TpO3	1257	419	-	HDAGH	WLFMVTYLQH H	HVVHHLF

Tabelle 11: Länge, Exons, Homologie und Identitäten der clonierten Desaturasen.

Des.	GDN A (bp)	Exon 1	Exon 2	First Blast Hit	Hom./Iden.
TpD4	2633	496-1314	1571-2260	Thrautochitrium D4-des	56% / 43%
TpD5-1	2630	490-800	900-2019	Phaeodactylum D5-des	74% / 62%
TpD5-2	2643	532-765	854-2068	Phaeodactylum D5-des	72% / 61%
TpD6	2371	379-480	630-1982	Phaeodactylum D6-des	83% / 69%
TpFAD2	2667	728-2032	-	Phaeodactylum FAD2	76% / 61%
TpO3	2402	403-988	1073-1743	Chaenorhabdids Fad2	49% / 28%

- 10 Analog zu den vorgenannten Beispielen lassen sich auch die Δ -12-Desaturasegene aus *Ostreococcus* und *Thalassiosira* clonieren.

118

Beispiel 38 Klonierung von Elongase Genen aus *Xenopus laevis* und *Ciona intestinalis*

5 Durch Suche nach konservierten Bereichen (siehe Konsensus-Sequenzen, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 116) in den Proteinsequenzen in Gendatenbanken (Genbank) mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit Δ -5-Elongaseaktivität oder Δ -6-Elongaseaktivität konnten weitere Elongasesequenzen aus anderen Organismen identifiziert und isoliert werden. Aus *X. laevis* bzw. aus *C. intestinalis* konnten mit entsprechenden Motiven jeweils weitere Sequenzen identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	Organismus	Genbank-Nr.	SEQ ID NO:	Aminosäuren
ELO(XI)	<i>Xenopus laevis</i>	BC044967	117	303
ELO(Ci)	<i>Ciona intestinalis</i>	AK112719	119	290

10 Der cDNA Klon von *X. laevis* wurde vom NIH (National Institut of Health) bezogen [Genetic and genomic tools for *Xenopus* research: The NIH *Xenopus* initiative, Dev. Dyn. 225 (4), 384-391 (2002)].

15 Der cDNA Klon von *C. inetstinalis* wurde von der Universität von Kyto bezogen [Satou,Y., Yamada,L., Mochizuki,Y., Takatori,N., Kawashima,T., Sasaki,A., Hamaguchi,M., Awazu,S., Yagi,K., Sasakura,Y., Nakayama,A., Ishikawa,H., Inaba,K. and Satoh,N. "A cDNA resource from the basal chordate *Ciona intestinalis*" JOURNAL Genesis 33 (4), 153-154 (2002)].

20 Beispiel 39: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in -Hefen

25 Die Amplifizierung der Elongase-DNAs wurde jeweils mit 1 μ L cDNA, 200 μ M dNTPs, 2,5 U *Advantage*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 μ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Gen-Name und SEQ ID NO:	Primersequenz
ELO(XI) SEQ ID NO: 121	F:5'- AGGATCC <u>ATGG</u> CCTTCAAGGAGCTCACATC
SEQ ID NO: 122	R:5'- CCTCGAGT <u>CAAT</u> GGTTTTTGCTTTTCAATG-CACCG
ELO(Ci), SEQ ID NO: 123	F:5'- TAAGCTT <u>ATGG</u> ACGTACTTCATCGT
SEQ ID NO: 124	R:5'- TCAGATCTT <u>TAAT</u> CGGTTTTACCATT

*F=forward primer, R=reverse primer

Die PCR Produkte wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor - pYES2.1-TOPO (Invitrogen) gemäß Herstellerangaben inkubiert. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) nach Herstellerangaben in den Vektor ligiert. Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von E. coli DH5α Zellen. Entsprechende Klone wurden durch PCR - identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert. Anschließend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-ELO(XI) und pYES2.1-ELO(Ci). Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 40: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu werden mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt.

pSUN-ELO(XI)

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATATGGCCTTCAAGGAGCTCACATC

(SEQ ID NO: 125)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTTCAATGGTTTTTGCTTTTCAATGCACCG

(SEQ ID NO: 126)

pSUN-ELO(Ci)

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATATGGACGTACTTCATCGT

(SEQ ID NO: 127)

120

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTTAATCGGTTTTACCATT

(SEQ ID NO: 128)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
- 5 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂
- 5,00 µL 2mM dNTP
- 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
- 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

10 Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
Elongationstemperatur: 2 min 72°C
Anzahl der Zyklen: 35

- 15 Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurden die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäß Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. 20 Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-ELO(XI) und pSUN-ELO(Ci) wurden durch Sequenzierung verifiziert.

- 25 pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP [Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994]. pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. 35

Primersequenz: 5'-

GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3' (SEQ ID NO: 129).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

- 5 Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 41: Expression von ELO(XI) und ELO(Ci) in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2, pYES2-ELO(XI) und pYES2-ELO(Ci) transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- 10 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert. Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8): 761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 42: Funktionelle Charakterisierung von ELO(XI) und ELO(Ci):

- 30 Die Substratspezifität der ELO(XI) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 22). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der ELO(XI)-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen ELO(XI) funktional exprimiert werden konnte.
- 35 Tabelle 12 zeigt, dass die ELO(XI) eine breite Substratspezifität aufweist. Es werden sowohl C18 als auch C20 Fettsäuren verlängert, wobei ein Bevorzugung von Δ5- und Δ6-desaturierten Fettsäuren zu beobachten ist.

122

Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-ELO(XI) transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

- 5 Tabelle 12: Expression von ELO(XI) in Hefe. Beschrieben ist die Umsetzungsrate (Konversionsrate) verschiedener Edukte (gefüttert jeweils 250 μ M).

Edukte	Konversion der Edukte durch ELO(XI) in %
16:0	3
16:1 ^{$\Delta 9$}	0
18:0	2
18:1 ^{$\Delta 9$}	0
18:2 ^{$\Delta 9,12$}	3
18:3 ^{$\Delta 6,9,12$}	12
18:3 ^{$\Delta 5,9,12$}	13
18:3 ^{$\Delta 9,12,15$}	3
18:4 ^{$\Delta 6,9,12,15$}	20
20:3 ^{$\Delta 8,11,14$}	5
20:3 ^{$\Delta 11,14,17$}	13
20:4 ^{$\Delta 5,8,11,14$}	15
20:5 ^{$\Delta 5,8,11,14,17$}	10
22:4 ^{$\Delta 7,10,13,16$}	0
22:6 ^{$\Delta 4,7,10,13,16,19$}	0

123

- Die Substratspezifität der ELO(Ci) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 23). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der ELO(Ci)-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen ELO(Ci) funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 13 zeigt, dass die ELO(Ci) eine breite Substratspezifität aufweist. Es werden sowohl C18 als auch C20 Fettsäuren verlängert, wobei eine Bevorzugung von $\Delta 5$ - und $\Delta 6$ -desaturierten Fettsäuren zu beobachten ist.

- Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-ELO(Ci) transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Tabelle 13: Expression von ELO(Ci) in Hefe. Beschrieben ist die Umsetzungsrate (Konversionsrate) verschiedener Edukte (gefüttert jeweils 250 μ M).

Edukte	Konversion der Edukte durch ELO(Ci) in %
16:0	0
16:1 ^{$\Delta 9$}	0
18:0	0
18:1 ^{$\Delta 9$}	0
18:2 ^{$\Delta 9,12$}	23
18:3 ^{$\Delta 6,9,12$}	10
18:3 ^{$\Delta 5,9,12$}	38
18:3 ^{$\Delta 9,12,15$}	25
18:4 ^{$\Delta 6,9,12,15$}	3
20:3 ^{$\Delta 8,11,14$}	10
20:3 ^{$\Delta 11,14,17$}	8

Edukte	Konversion der Edukte durch ELO(Ci) in %
20:4 Δ 5,8,11,14	10
20:5 Δ 5,8,11,14,17	15
22:4 Δ 7,10,13,16	0
22:6 Δ 4,7,10,13,16,19	0

Beispiel 43: Klonierung von Genen aus *Ostreococcus tauri*

- 5 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der hierin beschriebenen Elongase-Gene mit Δ -5-Elongaseaktivität oder Δ -6-Elongaseaktivität konnten je zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Ostreococcus tauri* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
OtELO1, (Δ -5-Elongase)	SEQ ID NO: 67	300
OtELO1.2, (Δ -5-Elongase)	SEQ ID NO: 113	300
OtELO2, (Δ -6-Elongase)	SEQ ID NO: 69	292
OtELO2.1, (Δ -6-Elongase)	SEQ ID NO: 111	292

- 10 OtElo1 und OtElo1.2 weisen die höchste Ähnlichkeit zu einer Elongase aus *Danio rerio* auf (GenBank AAN77156; ca. 26 % Identität), während OtElo2 und OtElo2.1 die größte Ähnlichkeit zur *Physcomitrella* Elo (PSE) [ca. 36 % Identität] aufweisen (Alignments wurden mit dem tBLASTn-Aalgorithmus (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215: 403 – 410) durchgeführt.

Die Klonierung der Elongasen wurde wie folgt durchgeführt:

- 15 40 ml einer *Ostreococcus tauri* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100 μ l Aqua bidest resuspendiert und bei -20°C gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der OtElo-DNAs wurde jeweils mit 1 μ l aufgetauten Zellen,
- 20 200 μM dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 μ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30

Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

Beispiel 44: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

- 5 Zur Charakterisierung der Funktion der Elongasen aus *Ostreococcus tauri* wurden die offenen Leserahmen der jeweiligen DNAs stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei pOTE1, pOTE1.2, pOTE2 und pOTE2.1 erhalten wurden.

- 10 Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pOTE1, pOTE1.2, pOTE2 bzw. pOTE2.1 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

- 15 Für die Expression der Ot-Elongasen wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert.

5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD₆₀₀ von 0,05 angeimpft.

- 20 Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel 45: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- 25 Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen wurden von den 5'- und 3-Bereich von OtElo1, OtElo1.2, OtElo2 und OtElo2.1 abgeleitet.

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 30 5,00 µL Template cDNA
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl₂
5,00 µL 2mM dNTP
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
0,50 µL Advantage-Polymerase
- 35 Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.
Reaktionsbedingungen der PCR:
Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

- Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert.
- 5 Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert. Anschließend wurden die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäß Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu
- 10 wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-OtELO1, pSUN-OtELO1.2, pSUN-OtELO2 und pSUN-OtELO2.2 wurden durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP [Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994]. pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem
- 15 in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Ostreococcus-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map
- 20 of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines
- 25 synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert.

Primersequenz:

5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
GGATCTGCTGGCTATGAA-3'). (SEQ ID NO: 130)

- Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor
- 30 pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von Arabidopsis thaliana, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Beispiel 46: Expression von OtElo1, OtElo1.2, OtElo2 und OtELO2.2 in Hefen

- Hefen, die wie unter Beispiel 15 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OtELO1, pYES3-
- 35 OtELO1.2, pYES3-OtELO2 und pYES3-OtELO2.2 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium

und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 47: Funktionelle Charakterisierung von OtElo1, OtElo1.2, OtElo2 und OtElo2.1:

Die Substratspezifität der OtElo1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 14). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OtElo1 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 14 zeigt, dass OtElo1 bzw. OtElo1.2 eine enge Substratspezifität aufweist. OtElo1 bzw. OtElo1.2 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure (Figur 24A, 24B) und Arachidonsäure (Figur 25A, 25B) elongieren, bevorzugte aber die ω-3-desaturierte Eicosapentaensäure.

Tabelle 14:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %) OtElo1	Umsatz (in %) OtElo1.2
16:0	-	-
16:1 ^{Δ9}	-	-
18:0	-	-
18:1 ^{Δ9}	-	-

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %) OtElo1	Umsatz (in %) OtElo1.2
18:1 ^{Δ11}	-	-
18:2 ^{Δ9,12}	-	-
18:3 ^{Δ6,9,12}	-	-
18:3 ^{Δ5,9,12}	-	-
20:3 ^{Δ8,11,14}	-	-
20:4 ^{Δ5,8,11,14}	10,8 ± 0,6	38,0
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	46,8 ± 3,6	68,6
22:4 ^{Δ7,10,13,16}	-	-
22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	-	-

Tabelle 14 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo1 und OtElo1.2 für C20 polyungesättigte Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ5 Position gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

- 5 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE1 bzw. pOTE1.2 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

10 Die Substratspezifität der OtElo2 (SEQ ID NO: 81) OtElo2.1 (SEQ ID NO: 111) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 15). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo2-Reaktion. Dies bedeutet, dass die Gene OtElo2 und OtElo2.1 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 15:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %) OtElo2	Umsatz (in %) OtElo2.2
16:0	-	-
16:1 ^{Δ9}	-	-
16:3 ^{Δ7,10,13}	-	-
18:0	-	-
18:1 ^{Δ6}	-	-
18:1 ^{Δ9}	-	-
18:1 ^{Δ11}	-	-
18:2 ^{Δ9,12}	-	-
18:3 ^{Δ6,9,12}	15,3	55,7
18:3 ^{Δ5,9,12}	-	-
18:4 ^{Δ6,9,12,15}	21,1	70,4
20:2 ^{Δ11,14}	-	-
20:3 ^{Δ8,11,14}	-	-
20:4 ^{Δ5,8,11,14}	-	-
20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	-	-
22:4 ^{Δ7,10,13,16}	-	-
22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	-	-
22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	-	-

Tabelle 15 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo2 und OtElo2.1 gegenüber verschiedenen Fettsäuren. OtElo2.1 zeigt eine deutlich höhere Aktivität.

- 5 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE2 bzw. pOTE2.1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

- 10 Die enzymatische Aktivität, die in Tabelle 15 wiedergegeben wird, zeigt klar, dass OtElo2 bzw. OtElo2.1 eine Δ-6-Elongase ist.

Figur 24 A – D zeigt die Elongation von Eicosapentaensäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D). Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:5ω3).

Figur 25 A – D zeigt die Elongation von Arachidonsäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D). Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:4 ω 6).

Beispiel 48: Klonierung von Elongase-Genen aus *Euglena gracilis* und *Arabidopsis thaliana*

- 5 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit Δ -5-Elongaseaktivität oder Δ -6-Elongaseaktivität konnten Sequenzen aus *Arabidopsis thaliana* bzw. *Euglena gracilis* mit entsprechenden Motiven in Sequenzdatenbanken (Genbank, *Euglena* EST Bank) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
EGY1019 (<i>E. gracilis</i>)	SEQ ID NO: 131	262
EGY2019 (<i>E. gracilis</i>)	SEQ ID NO: 133	262
At3g06460 (<i>A. thaliana</i>)	SEQ ID NO: 135	298
At3g06470 (<i>A. thaliana</i>)	SEQ ID NO: 137	278

- 10 Die Klonierung der Elongasen aus *Euglena gracilis* wurden wie folgt durchgeführt:

Der *Euglena gracilis* Stamm 1224-5/25 wurde erhalten von der Sammlung für Algenkulturen Göttingen (SAG). Zur Isolierung wurde der Stamm in Medium II (Calvayrac R and Douce R, FEBS Letters 7:259-262, 1970) für 4 Tage bei 23 °C unter einem Licht-/ Dunkelintervall von 8 h / 16 h (35 mol s⁻¹ m⁻² Lichtstärke) angezogen.

- 15 Gesamt-RNA von einer viertägigen *Euglena* Kultur wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe von oligo-dT-Cellulose poly-A⁺ RNA (mRNA) isoliert (Sambrook et al., 1989). Die RNA wurde mit dem Reverse Transcription System Kit von Promega revers transkribiert und die synthetisierte cDNA in den lambda ZAP Vektor (lambda ZAP Gold, Stratagene)
- 20 kloniert. Entsprechend der Herstellerangaben wurde die cDNA zur Plasmid-DNA entpackt und Klone wurden zur Zufallssequenzierung ansequenziert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe des PolyAtract Isolierungssystems (Promega) mRNA isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA Amplification-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend der Herstellerangaben wurden die Adaptoren ligiert. Die
- 25 cDNA-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

Die Klonierung der Elongasen aus *Arabidopsis thaliana* wurde wie folgt durchgeführt:

Ausgehend von der genomischen DNA wurden für die beiden Gene Primer entsprechend am 5'- und 3'-Ende des offenen Leserahmens abgeleitet.

- 30 Zur Isolierung von Gesamt-RNA aus *A. thaliana* wurde nach Chirgwin *et al.*, (1979) verfahren. Blätter von 21 Tage alten Pflanzen wurden in flüssigem Stickstoff zermört, mit Aufschlusspuffer versetzt und für 15 min bei 37 °C inkubiert. Nach Zentrifuga-

tion (10 min, 4 °C, 12000xg) wurde die RNA im Überstand mit 0,02 Volumen 3 M Natriumacetat pH 5,0 und 0,75 Volumen Ethanol bei -20 °C für 5 h präzipitiert. Die RNA wurde dann nach einem weiteren Zentrifugationsschritt in 1 mL TES pro g Ausgangsmaterial aufgenommen, einmal mit einem Volumen Phenol-Chloroform und einmal mit einem Volumen Chloroform extrahiert und die RNA mit 2,5 M LiCl gefällt. Nach anschliessendem Zentrifugieren und Waschen mit 80 %igem Ethanol wurde die RNA in Wasser resuspendiert. Entsprechend Sambrook et al. 1989 wurde die cDNA synthetisiert und RT-PCR mit den abgeleiteten Primer durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden nach Herstellerangaben in den Vektor pYES2.1-TOPO (Invitrogen) kloniert.

10 Beispiel 49: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

15 Zur Charakterisierung der Funktion der Elongasen aus *A. thaliana* wurden die offenen Leserahmen der jeweiligen DNAs stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei pAt60 und pAt70 erhalten wurden.

Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pAt60 bzw. pAt70 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2.1 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Für die Expression der At-Elongasen wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert.

25 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD₆₀₀ von 0,05 angeimpft. Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel 50: Expression von pAt60 und pAt70 in Hefen

30 Hefen, die wie unter Beispiel 5 mit den Plasmiden pYES2.1, pAt60 bzw. pAt70 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH

- schen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO₃, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

- Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 51: Funktionelle Charakterisierung von pAt60 und pAt70

- Die Substratspezifität der Elongasen At3g06460 bzw. At3g06470 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 16, Fig. 26). Die gefütterten Substrate sind in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der Gene At3g06460 bzw. At3g06470. Dies bedeutet, dass diese Gene funktional exprimiert werden konnte.

20

Tabelle 16: Elongation von EPA durch die Elongasen At3g06460 bzw. At3g06470. Messung der Hefeextrakte nach Fütterung mit 250 µM EPA.

Gen	Gefütterte Fettsäure	Gehalt an C20:5n-3	Gehalt an C22:5n-3
At3g06460	EPA (C20:5n-3)	20,8	0,6
At3g06460	EPA (C20:5n-3)	25,4	1,1
Konversionsrate von EPA		At3g06460: 3,0 %	At3g06470: 4,1 %

Figur 26 gibt die Elongation von 20:5n-3 durch die Elongasen At3g06470 wieder.

- 25 Äquivalente:

Der Fachmann erkennt oder kann viele Äquivalente der hier beschriebenen erfindungsgemäßen spezifischen Ausführungsformen feststellen, indem er lediglich Routineexperimente verwendet. Diese Äquivalente sollen von den Patentansprüchen umfasst sein.

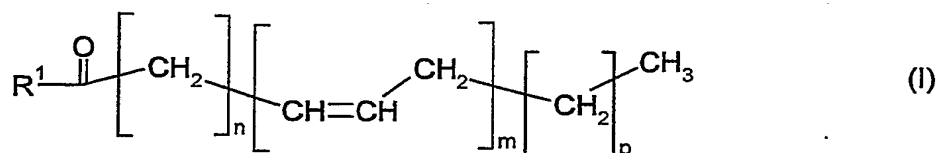
Tabelle 2: Umsetzungsraten der gefütterten Fettsäuren. Die Konversionsraten wurden berechnet nach der Formel:

$$[\text{Konversionsrate}] = \frac{[\text{Produkt}]}{[\text{Substrat}] + [\text{Produkt}]} * 100.$$

BioTaur-Klone Fläche in % der GC-Analyse														
Clone	Fett-säure	C16:0	C16:1 (n-7)	C18:0	C18:1 (n-9)	C18:3 (n-6)	C18:4 (n-3)	C20:3 (n-6)	C20:4 (n-6)	C20:4 (n-3)	C20:5 (n-3)	C22:4 (n-6)	C22:4 (n-3)	C22:5 (n-3)
Vector	keine	21.261	41.576	4.670	25.330									
BioTaur	Keine	20.831	37.374	4.215	26.475									
Vector	GLA + EPA	22.053	23.632	5.487	17.289	11.574					13.792			
BioTaur	GLA + EPA	20.439	25.554	6.129	19.587	3.521		6.620			10.149			1.127
Vector	EPA	20.669	28.985	6.292	21.712						16.225			
BioTaur	EPA	20.472	26.913	6.570	23.131						11.519			3.251
Vector	ARA	23.169	23.332	6.587	12.735				27.069					
BioTaur	ARA	20.969	31.281	5.367	21.351				9.648			1.632		
Vector	SDA	18.519	12.626	6.642	6.344		47.911							
BioTaur	SDA	19.683	15.878	7.246	8.403		13.569			25.946			0.876	

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I

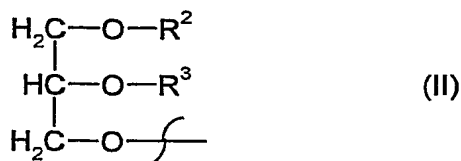


in transgenen Organismen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% dieser Verbindungen bezogen auf den Gesamtlipidgehalt des transgenen Organismus, dadurch gekennzeichnet, dass es folgende Verfahrensschritte umfasst:

- Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -9-Elongase- oder eine Δ -6-Desaturase-Aktivität codiert, und
- Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -8-Desaturase- oder eine Δ -6-Elongase-Aktivität codiert, und
- Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Desaturase-Aktivität codiert, und
- Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -5-Elongase-Aktivität codiert, und
- Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine Δ -4-Desaturase-Aktivität codiert, und

wobei die Variablen und Substituenten in der Formel I die folgende Bedeutung haben:

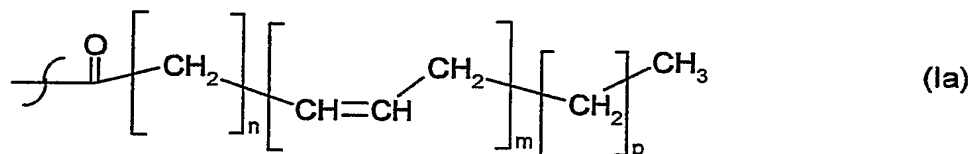
R^1 = Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



2

R^2 = Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-,

5 R^3 = Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-, - oder R^2 oder R^3 unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia:



$n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$ oder 9 , $m = 2, 3, 4, 5$ oder 6 und $p = 0$ oder 3 .

10 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus:

15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID NO: 137 dargestellten Sequenz, oder

30 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38,

35

SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46,
SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54,
SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66,
SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74,
SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ
ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID
NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO:
102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO:
118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO:
136 oder SEQ ID NO: 138 dargestellten Aminosäuresequenzen ableiten
lassen, oder

- c) Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID
NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15,
SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23,
SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31,
SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39,
SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,
SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59,
SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67,
SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75,
SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ
ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID
NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO:
103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO:
119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135 oder SEQ ID
NO: 137 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit
mindestens 40 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 2,
SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10,
SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18,
SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26,
SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34,
SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42,
SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50,
SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62,
SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70,
SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78,
SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ
ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID
NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID
NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID
NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136 oder SEQ ID NO: 138 co-
dieren und eine Δ -9-Elongase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -6-
Elongase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -5-Elongase- oder Δ -4-Desaturase-
aktivität aufweisen.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich in den Organismus eine Nukleinsäuresequenz eingebracht wird, die für Polypeptide mit ω 3-Desaturasaktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
- 5 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz, oder
- 10 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 codieren und eine ω 3-Desaturasaktivität aufweisen.
- 15 4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich in den Organismus eine Nukleinsäuresequenz eingebracht wird, die für Polypeptide mit Δ -12-Desaturasaktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
- 20 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz, oder
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 25 c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine Δ -12-Desaturasaktivität aufweisen.
- 30 5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 oder R^3 unabhängig voneinander gesättigtes oder ungesättigtes C_{18} - C_{22} -Alkylcarbonyl- bedeuten.
6. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 oder R^3 unabhängig voneinander ungesättigtes C_{18} -, C_{20} - oder C_{22} -Alkylcarbonyl- mit mindestens zwei Doppelbindungen bedeuten.
- 35 7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass der transgene Organismus ein transgener Mikroorganismus oder eine transgene Pflanze ist.

8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass der transgene Organismus eine Öl-produzierende Pflanze, eine Gemüsepflanze oder Zierpflanze ist.
- 5 9. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die transgene Organismus eine transgene Pflanze ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzenfamilien: Adelotheceaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Caricaceae, Cannabaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae, Crypthecodiniaceae, Cucurbitaceae, Ditrachaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Gramineae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Linaceae oder Prasinophyceae ist.
- 10 10. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I aus dem Organismus in Form ihrer Öle, Lipide oder freien Fettsäuren isoliert werden.
- 15 11. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I in einer Konzentration von mindestens 5 Gew.-% bezogenen auf den gesamten Lipidgehalt des transgenen Organismus isoliert werden.
- 20 12. Öl, Lipide oder Fettsäuren oder eine Fraktion davon, hergestellt durch das Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11.
13. Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs hergestellt nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11 umfasst und von transgenen Pflanzen stammt.
- 25 14. Verfahren zur Herstellung von Ölen, Lipiden oder Fettsäurezusammensetzungen durch Mischen von Öl, Lipide oder Fettsäuren gemäß Anspruch 12 oder Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung gemäß Anspruch 13 mit tierischen Ölen, Lipiden oder Fettsäuren.
- 30 15. Verwendung von Öl, Lipide oder Fettsäuren gemäß Anspruch 12 oder Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung gemäß Anspruch 13 oder Ölen, Lipiden oder Fettsäurezusammensetzungen hergestellt gemäß Anspruch 14 in Futter, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika.
- 35 16. Isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codiert und die eine Aminosäuresequenz enthält ausgewählt aus der Gruppe einer Aminosäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141 oder SEQ ID NO: 142 dargestellten Sequenz.

17. Isolierte Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codiert, eine Kombination der Aminosäuresequenzen enthält ausgewählt aus der Gruppe:
- 5 a) SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140; oder
- b) SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 142 oder SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142; oder
- 10 c) SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142.
18. Isolierte Nukleinsäuresequenzen gemäß Anspruch 16 oder 17, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenz ausgewählt ist aus der Gruppe:
- 15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Sequenz,
- 20 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 25 c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 codieren und eine Δ -5-Elongaseaktivität aufweisen.
- 30
- 35

19. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -6-Elongaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81 oder SEQ ID NO: 111 dargestellten Sequenz,
 - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82 oder SEQ ID NO: 112 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
 - c) Derivate der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81 oder SEQ ID NO: 111 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82 oder SEQ ID NO: 112 codieren und eine Δ -6-Elongaseaktivität aufweisen.
20. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit ω -3-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz,
 - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
 - c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 aufweisen und eine ω -3-Desaturaseaktivität aufweisen.
21. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -6-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 89 oder in SEQ ID NO: 97 dargestellten Sequenz,
 - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
 - c) Derivate der in SEQ ID NO: 89 oder SEQ ID NO: 97 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 codieren und eine Δ -6-Desaturaseaktivität aufweisen.

22. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Sequenz,
 - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
 - c) Derivate der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 codieren und eine Δ -5-Desaturaseaktivität aufweisen.
23. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 95 oder in SEQ ID NO: 103 dargestellten Sequenz,
 - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
 - c) Derivate der in SEQ ID NO: 95 oder SEQ ID NO: 103 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 codieren und eine Δ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.
24. Isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit Δ -12-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz, oder
 - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
 - c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 50 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine Δ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.

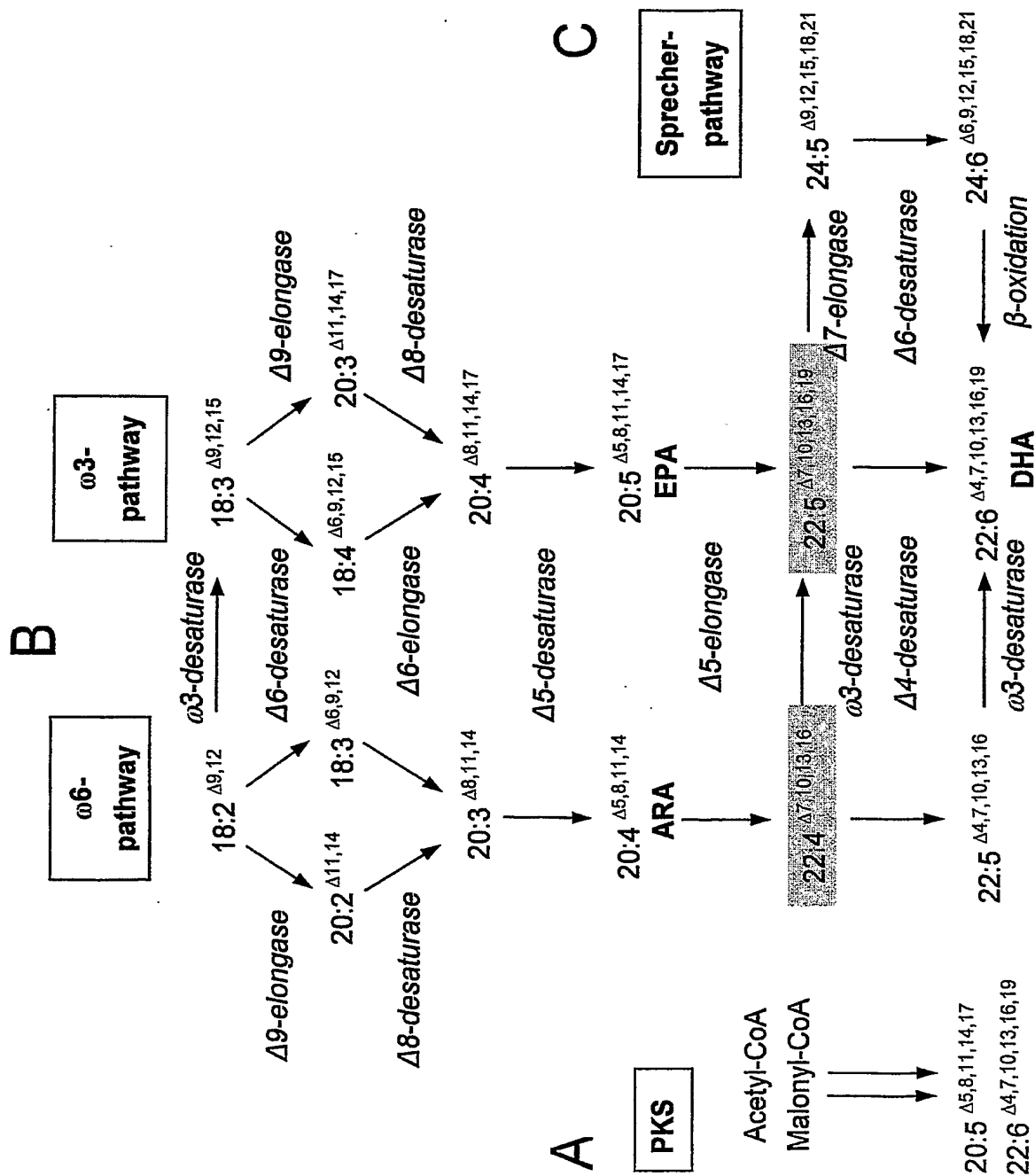
25. Isolierte Nukleinsäuresequenz nach den Ansprüchen 16 bis 24, wobei die Sequenz von einer Alge, einem Pilz, einem Mikroorganismus, einer Pflanze oder einem nicht-humanen Tier stammt.
- 5 26. Isolierte Nukleinsäuresequenz nach den Ansprüchen 16 bis 25, wobei die Sequenz aus der Ordnung Salmoniformes, den Diatomeengattungen Thalassiosira oder Crythecodinium oder aus der Familie der Prasinophyceae, Euglenaceae oder Pythiaceae stammt.
27. Aminosäuresequenz, die von einer isolierten Nukleinsäuresequenz nach einem der Ansprüche 16 bis 26 codiert wird.
- 10 28. Genkonstrukt, enthaltend eine isolierte Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 16 bis 26, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen verbunden ist.
- 15 29. Genkonstrukt nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n).
- 20 30. Genkonstrukt nach Anspruch 28 oder 29, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe der Δ -4-Desaturase-, Δ -5-Desaturase-, Δ -6-Desaturase-, Δ -8-Desaturase-, Δ -9-Desaturase-, Δ -12-Desaturase-, Δ -6-Elongase- oder Δ -9-Elongase.
- 25 31. Vektor, enthaltend eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 16 bis 26 oder ein Genkonstrukt nach den Ansprüchen 28 bis 30.
- 30 32. Transgener nicht-humaner Organismus, enthaltend mindestens eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 16 bis 26, ein Genkonstrukt nach den Ansprüchen 28 bis 30 oder einen Vektor nach Anspruch 31.
33. Transgener nicht-humaner Organismus nach Anspruch 32, wobei der Organismus ein Mikroorganismus, ein nicht-humanes Tier oder eine Pflanze ist.
- 35 34. Transgener nicht-humaner Organismus nach Anspruch 32 oder 33, wobei der Organismus eine Pflanze ist.

Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in transgenen Organismen

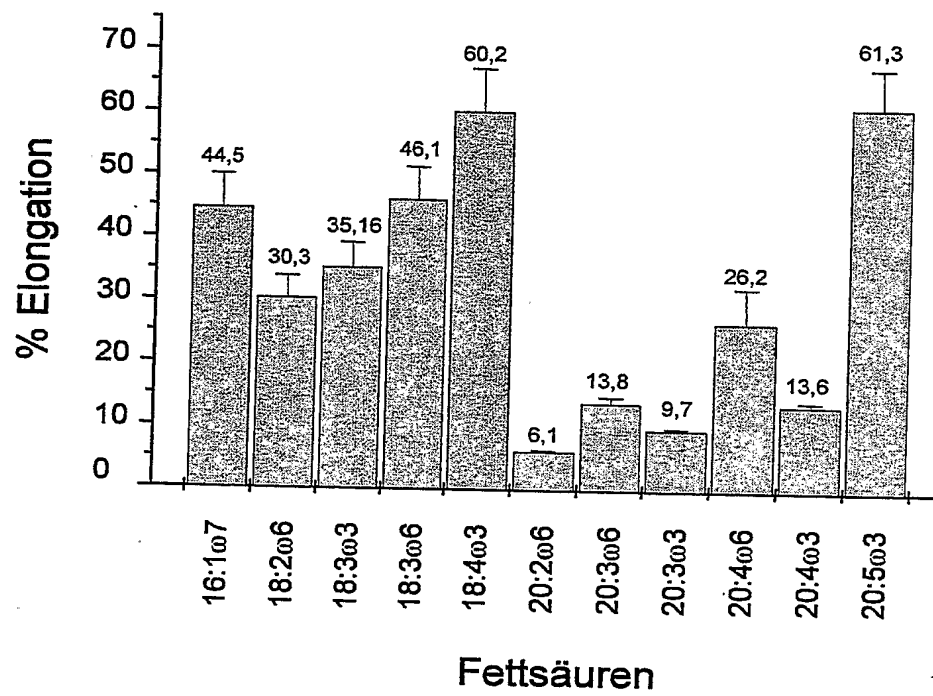
Zusammenfassung

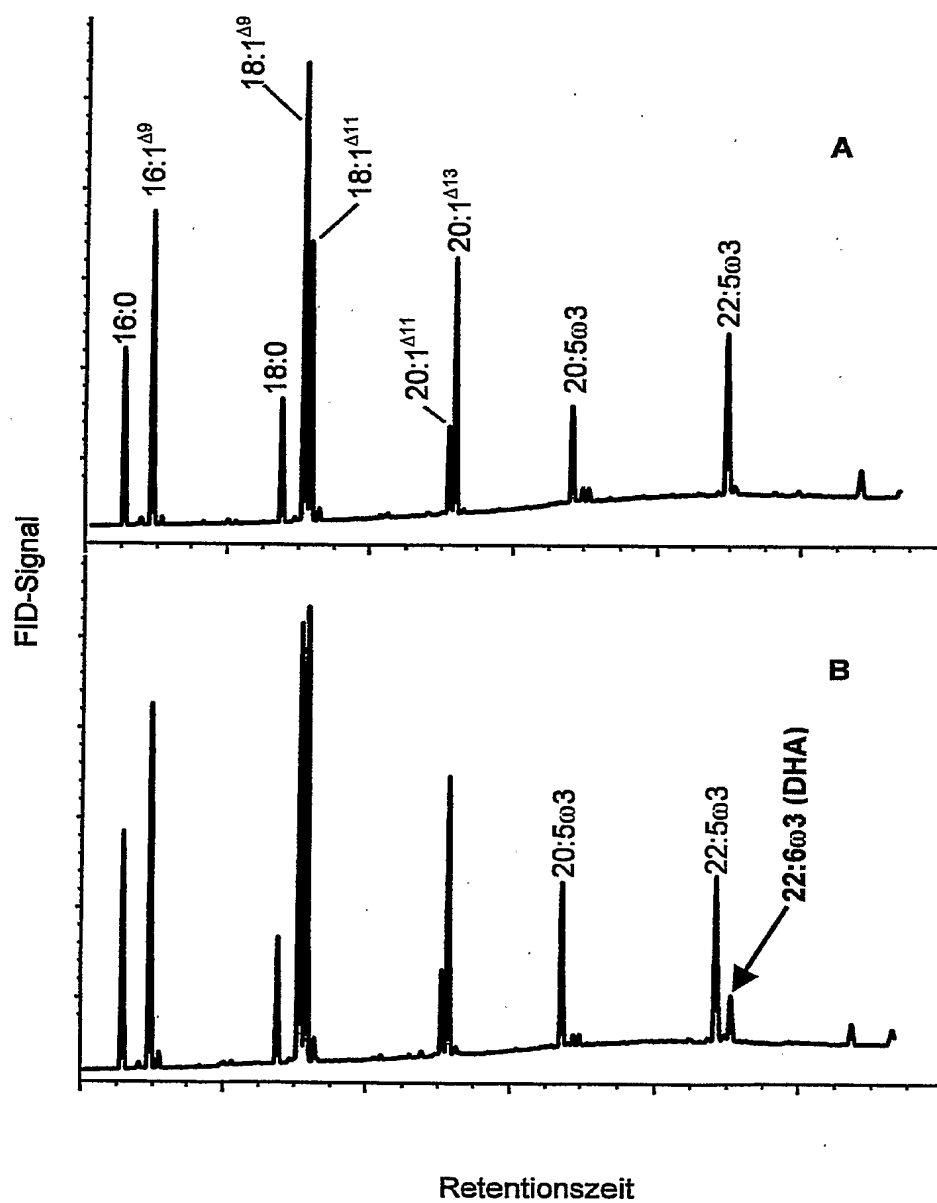
- Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus, indem Nukleinsäuren in den Organismus eingebracht werden, die für Polypeptide mit Δ -5-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide der Biosynthese des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren, in dem Organismus exprimiert werden. Besonders vorteilhaft sind Nukleinsäuresequenzen, die für eine Δ -6-Desaturase-, eine Δ -5-Desaturase-, Δ -4-Desaturase- und/oder Δ -6-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft stammen diese Desaturasen und Elongasen aus *Thalassiosira*, *Euglena* oder *Ostreococcus*. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triacylglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren.
- Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem in einer bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Herstellung von ungesättigten ω -3 Fettsäuren sowie ein Verfahren zur Herstellung von Triglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, besonders von ω -3 Fettsäuren mit mehr als drei Doppelbindungen. Die Erfindung betrifft die Herstellung eines transgenen Organismus bevorzugt einer transgenen Pflanze oder eines transgenen Mikroorganismus mit erhöhtem Gehalt an ungesättigten ω -3-Fettsäuren, Ölen oder Lipiden mit ω -3-Doppelbindungen aufgrund der Expression der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Elongasen und Desaturasen vorteilhaft in Verbindung mit ω -3-Desaturasen z.B. einer ω -3-Desaturase aus Pilzen der Familie Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora beispielsweise der Gattung und Art Phytophthora infestans oder einer ω -3-Desaturase aus Algen wie der Familie der Prasinophyceae z.B. der Gattung Ostreococcus speziell der Gattung und Art Ostreococcus tauri oder Diatomeen wie der Gattung Thalassiosira speziell der Gattung und Art Thalassiosira pseudonana.
- Die Erfindung betrifft weiterhin die Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte, Vektoren und Organismen enthaltend die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Vektoren enthaltend die Nukleinsäuresequenzen und/oder die Nukleinsäurekonstrukte sowie transgene Organismen enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren.
- Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren hergestellt nach dem erfindungsgemäßen Verfahren und deren Verwendung. Außerdem betrifft die Erfindung ungesättigte Fettsäuren sowie Triglyceride mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und deren Verwendung.

Figur 1: Verschiedene Synthese-Wege zur Biosynthese von DHA (Docosahexaensäure)

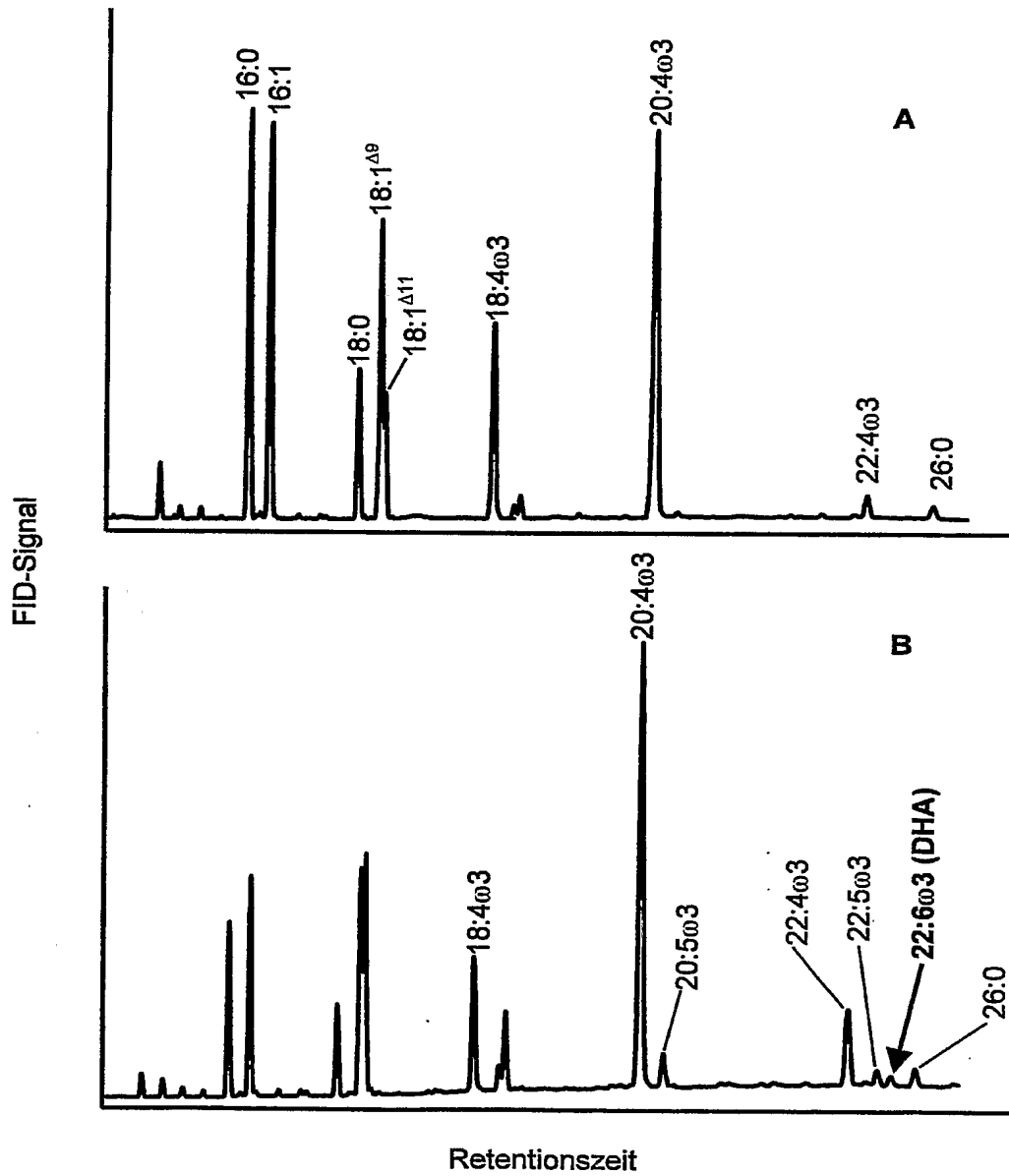


Figur 2: Substratspezifität der Δ -5-Elongase (SEQ ID NO: 53) gegenüber verschiedenen Fettsäuren



Figur 3: Rekonstitution der DHA-Biosynthese in Hefe ausgehend von 20:5 ω 3.

4/28

Figur 4: Rekonstitution der DHA-Biosynthese in Hefe ausgehend von 18:4 ω 3.

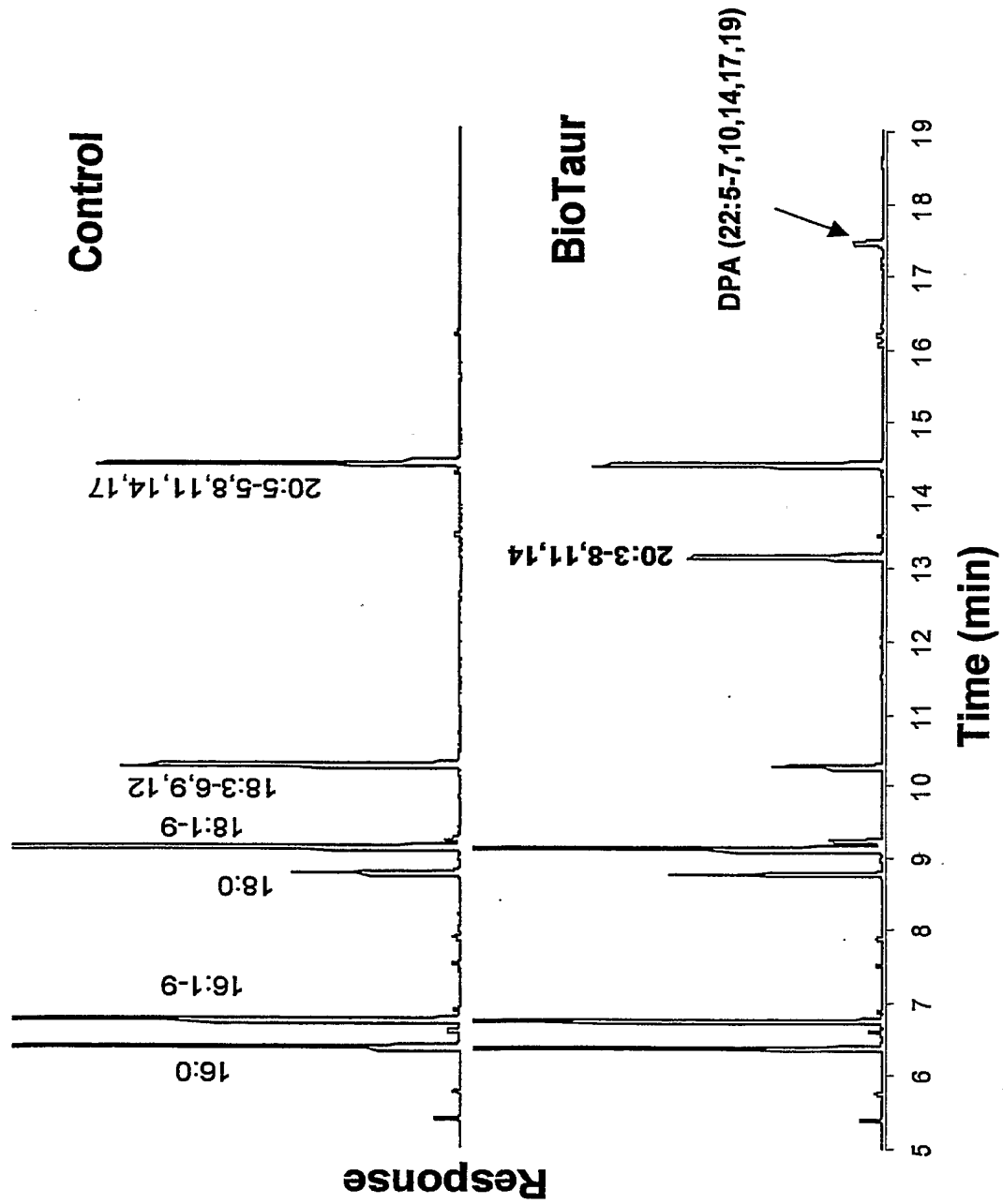
5/28

Figur 5: Fettsäure-Zusammensetzung (in Mol %) transgener Hefen, die mit den Vektoren pYes3-OmELO3/pYes2-EgD4 oder pYes3-OmELO3/pYes2-EgD4+pESCLEu-PtD5 transformiert worden waren. Die Hefezellen wurden in Minimalmedium ohne Tryptophan und Uracil / und Leucin in Gegenwart von 250 μ M 20:5 $^{\Delta 5,8,11,14,17}$ bzw. 18:4 $^{\Delta 6,9,12,15}$ kultiviert. Die Fettsäuremethylester wurden durch saure Methanolyse aus Zellsedimenten gewonnen und über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert (n=4) \pm Standardabweichung wieder.

Fettsäuren	pYes3-OmELO/pYes2-EgD4	pYes3-OmELO/pYes2-EgD4 EgD4 + pESCLEu-PtD5
	Fütterung mit 20:5 $^{\Delta 5,8,11,14,17}$	Fütterung mit 18:4 $^{\Delta 6,9,12,15}$
16:0	9,35 \pm 1,61	7,35 \pm 1,37
16:1 $^{\Delta 9}$	14,70 \pm 2,72	10,02 \pm 1,81
18:0	5,11 \pm 1,09	4,27 \pm 1,21
18:1 $^{\Delta 9}$	19,49 \pm 3,01	10,81 \pm 1,95
18:1 $^{\Delta 11}$	18,93 \pm 2,71	11,61 \pm 1,48
18:4 $^{\Delta 6,9,12,15}$	-	7,79 \pm 1,29
20:1 $^{\Delta 11}$	3,24 \pm 0,41	1,56 \pm 0,23
20:1 $^{\Delta 13}$	11,13 \pm 2,07	4,40 \pm 0,78
20:4 $^{\Delta 8,11,14,17}$	-	30,05 \pm 3,16
20:5 $^{\Delta 5,8,11,14,17}$	6,91 \pm 1,10	3,72 \pm 0,59
22:4 $^{\Delta 10,13,16,17}$	-	5,71 \pm 1,30
22:5 $^{\Delta 7,10,13,16,19}$	8,77 \pm 1,32	1,10 \pm 0,27
22:6 $^{\Delta 4,7,10,13,16,19}$	2,73 \pm 0,39	0,58 \pm 0,10

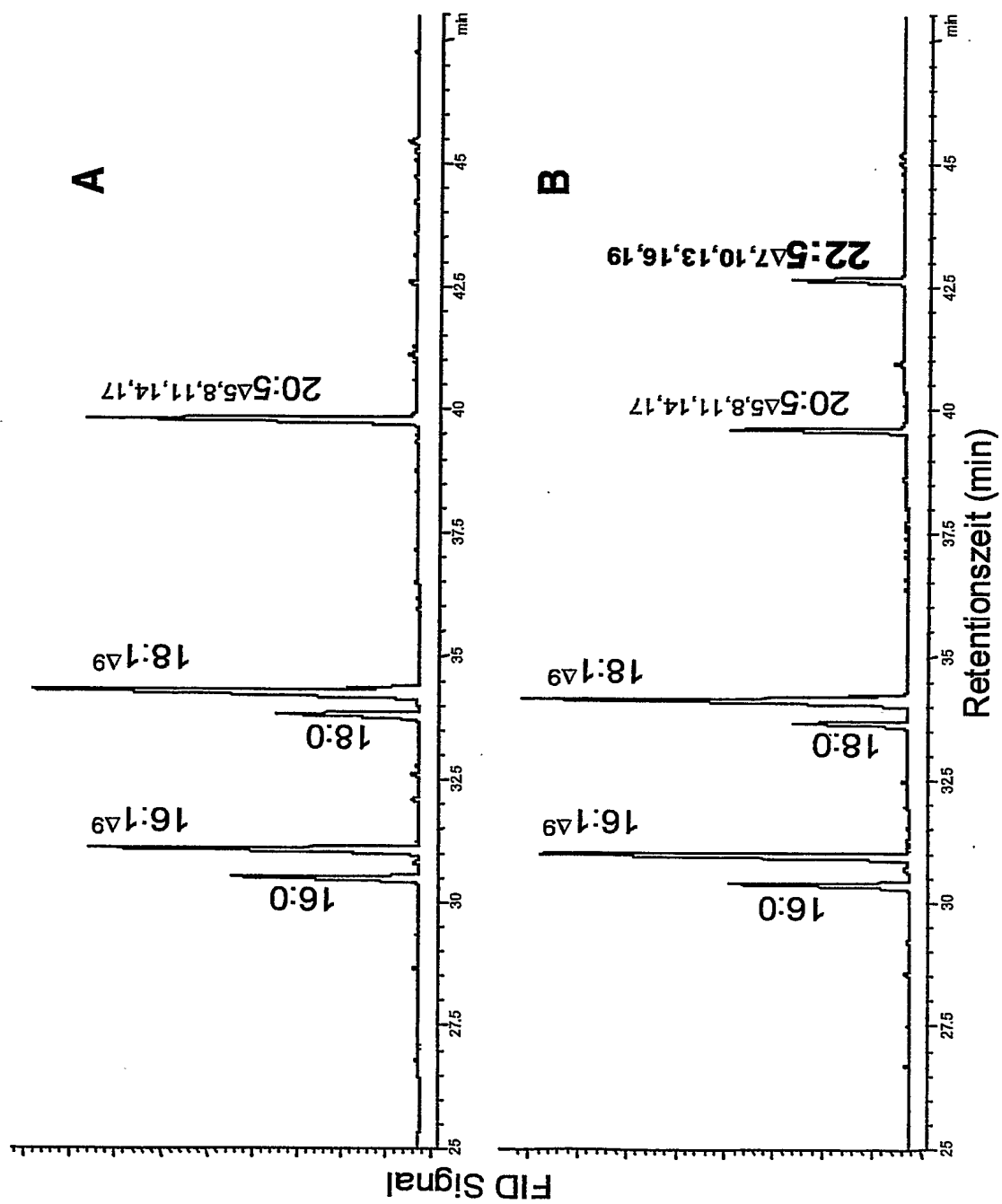
6/28

Figur 6: Fütterungsexperiment zur Bestimmung der Funktionalität und Substratspezifität mit Hefestämmen



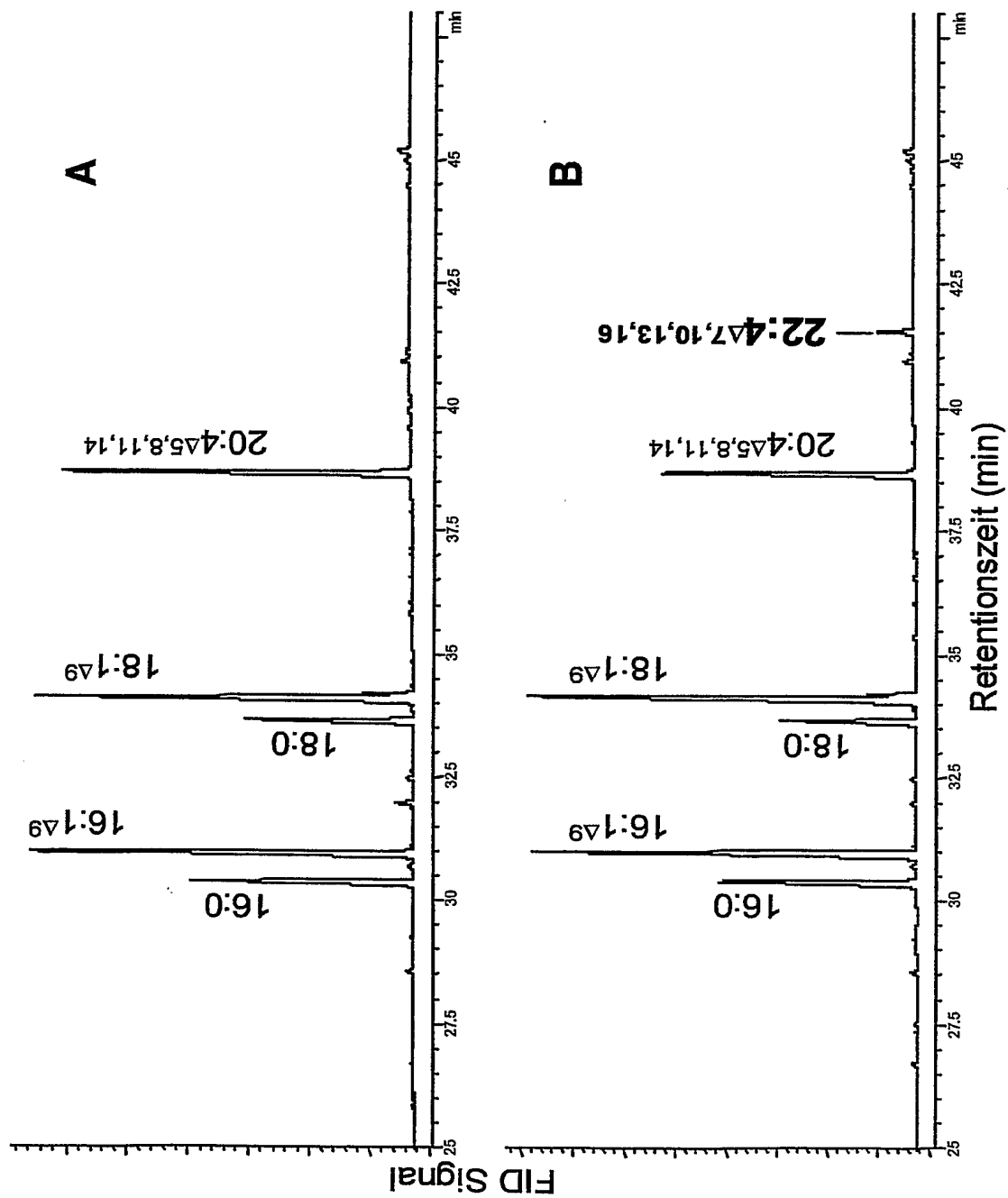
7/28

Figur 7: Elongation von Eicosapentaensäure durch OtElo1



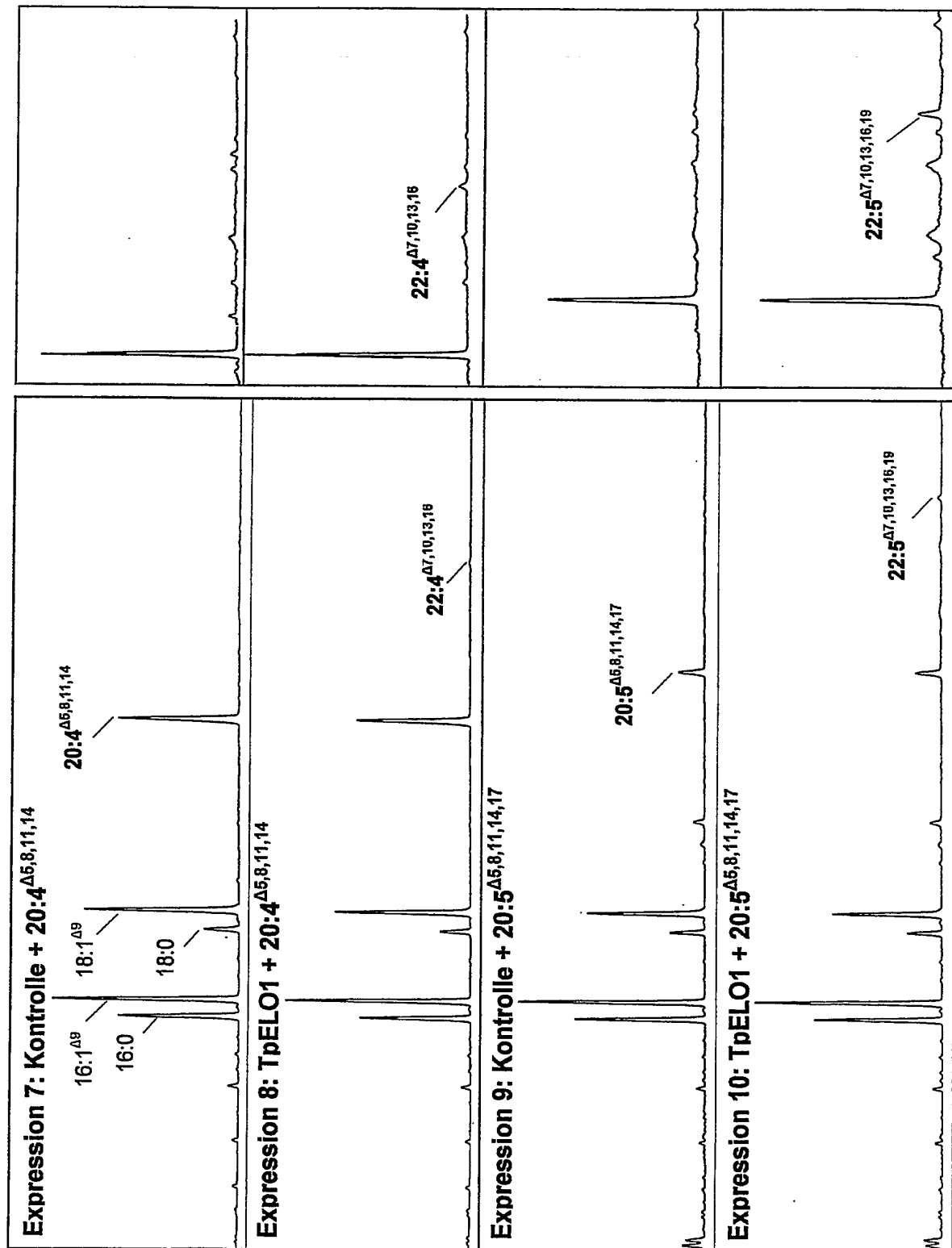
8/28

Figur 8: Elongation von Arachidonsäure durch Otlol1



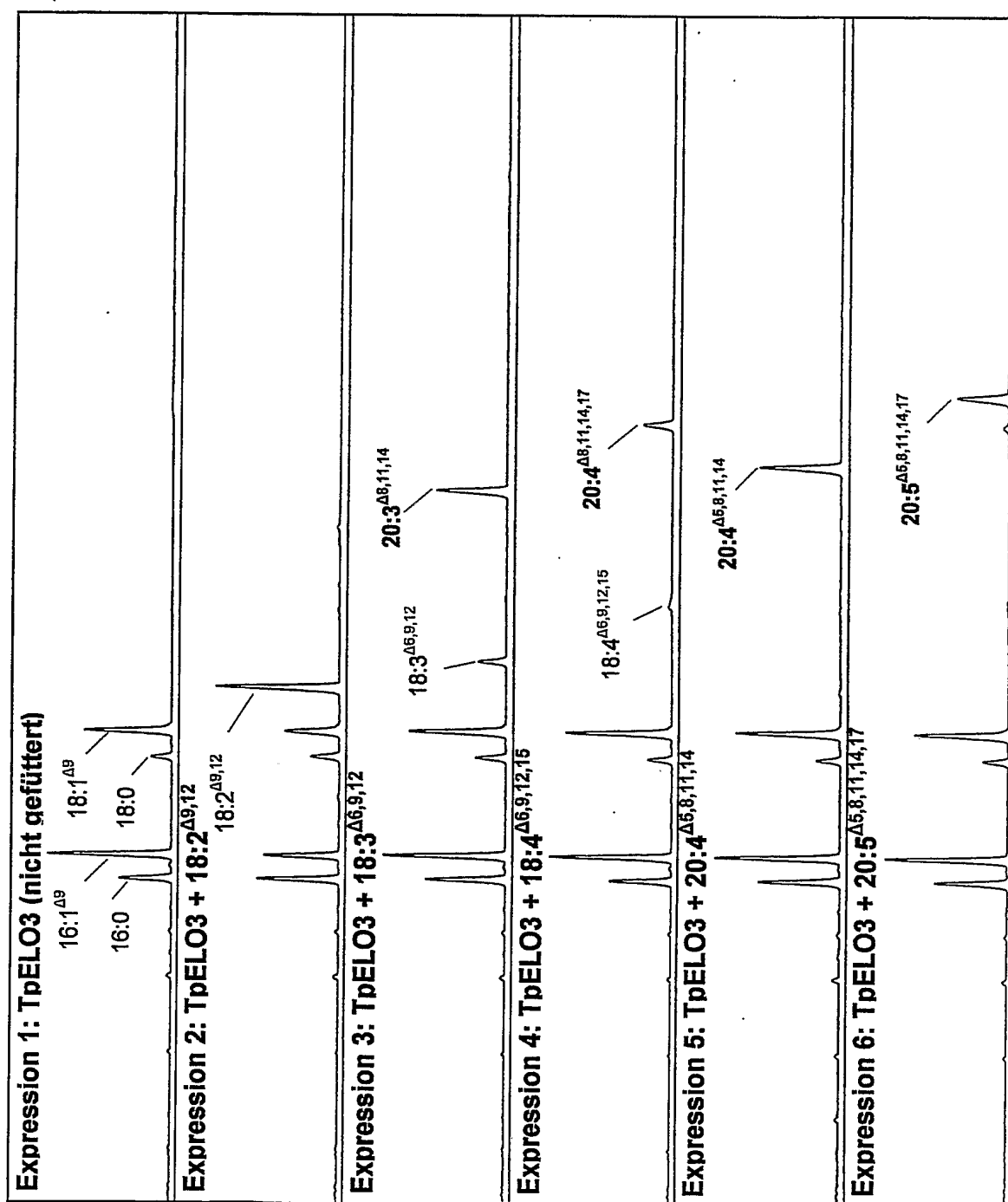
9/28

Figur 9: Expression von TpELO1 in Hefe



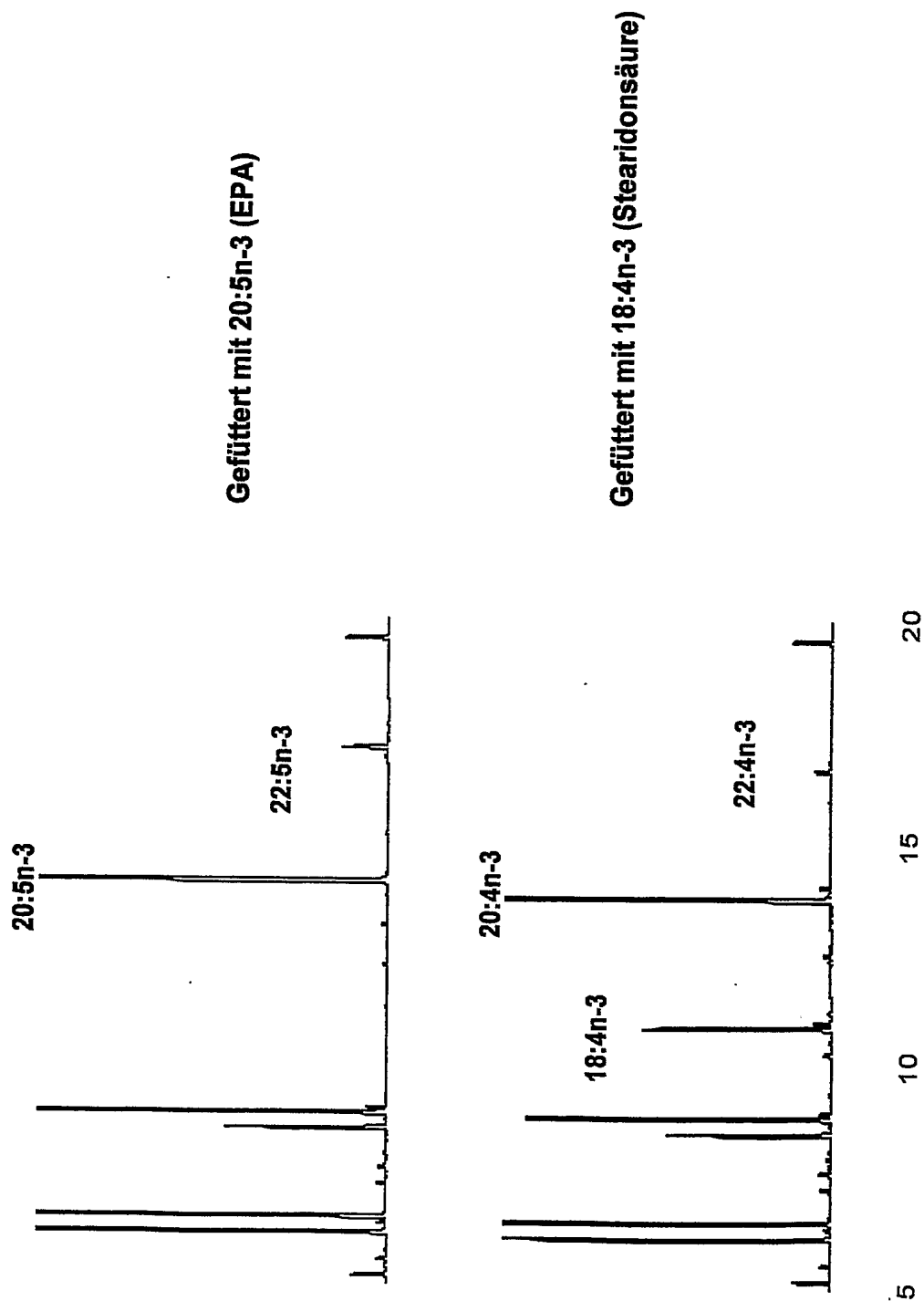
10/28

Figur 10: Expression von TpELO3 in Hefe.



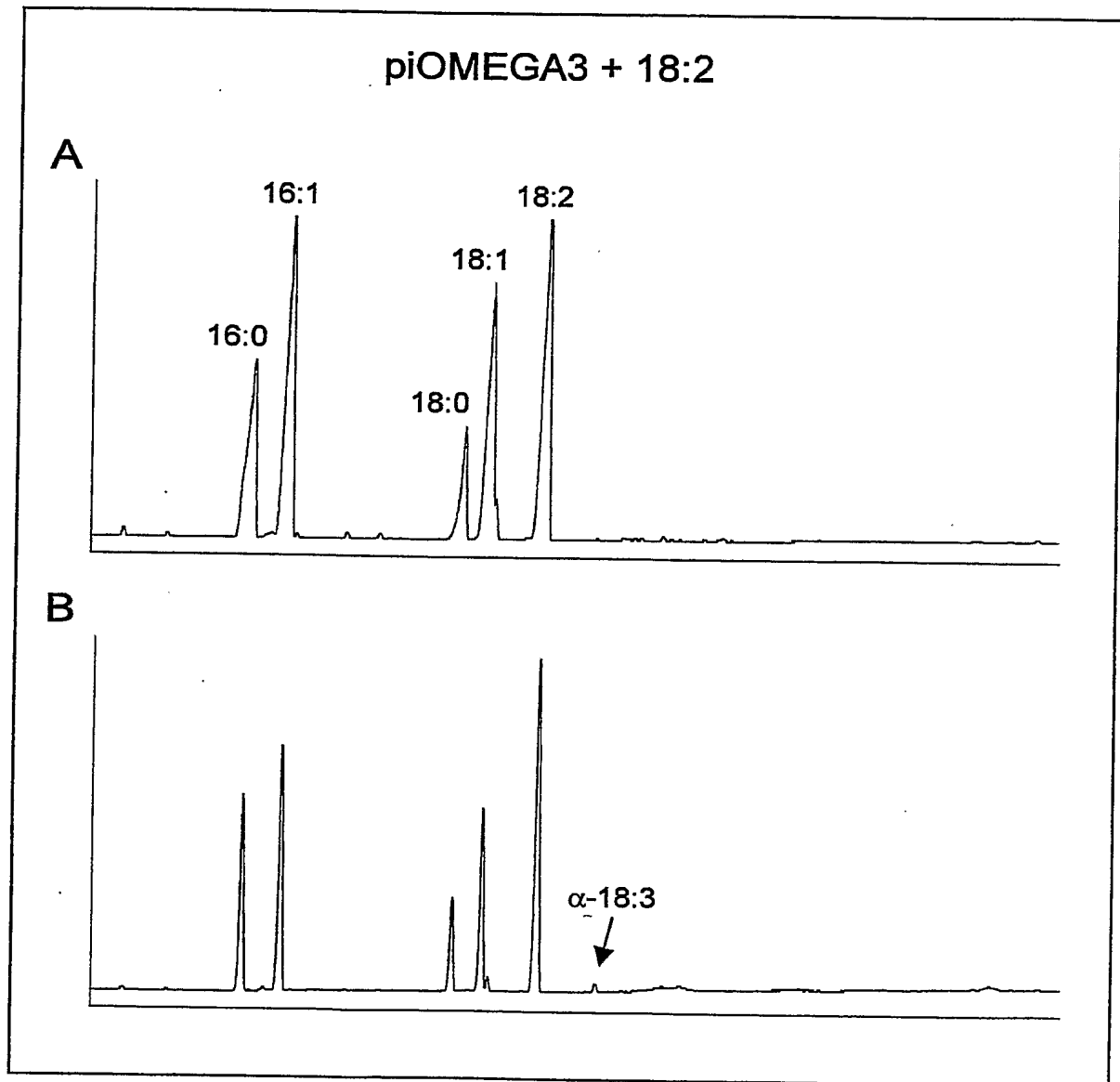
11/28

Figur 11: Expression von Thraustochytrium $\Delta 5$ -Elongase TL16/pYES2.1 in Hefe.

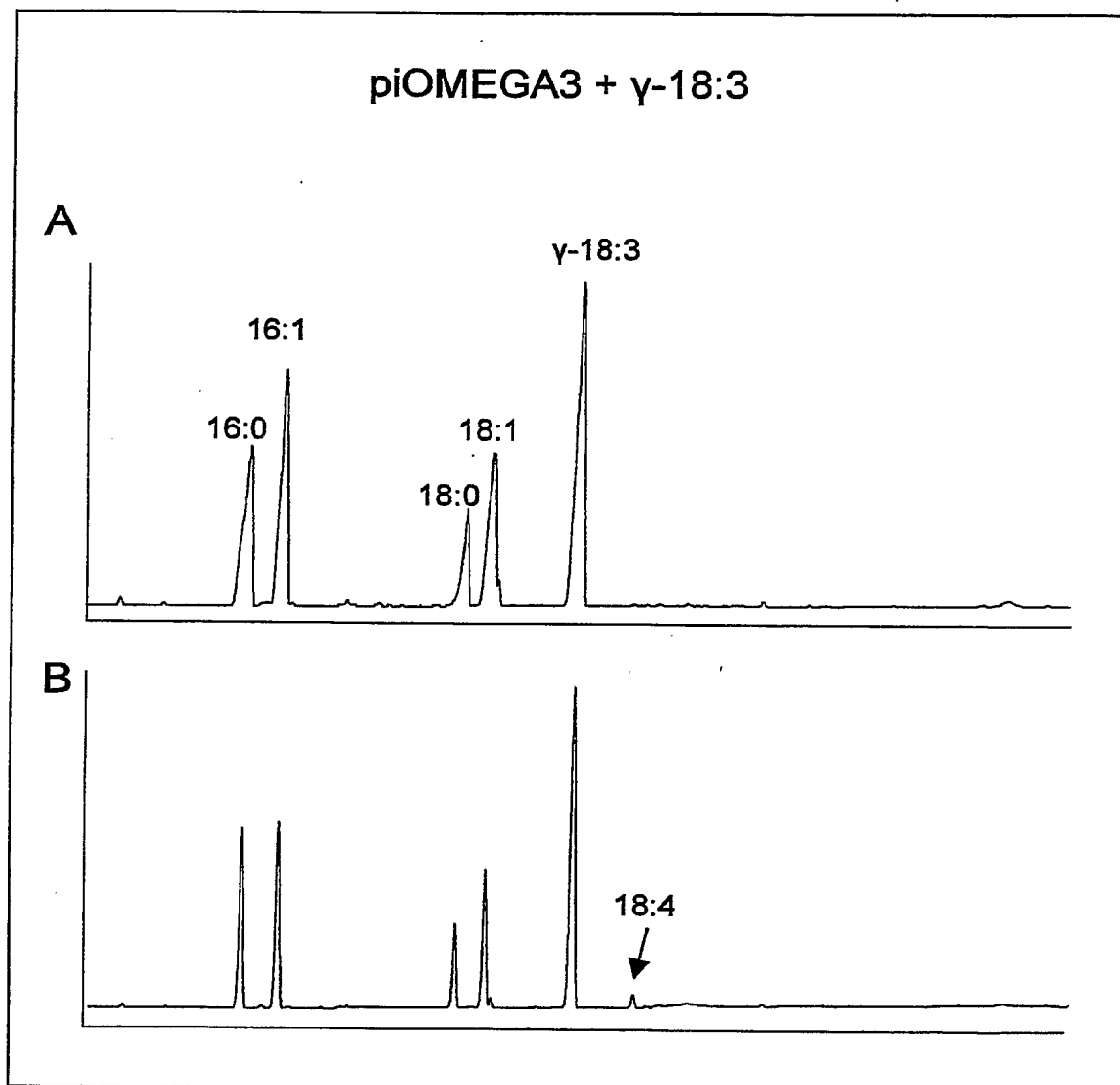


12/28

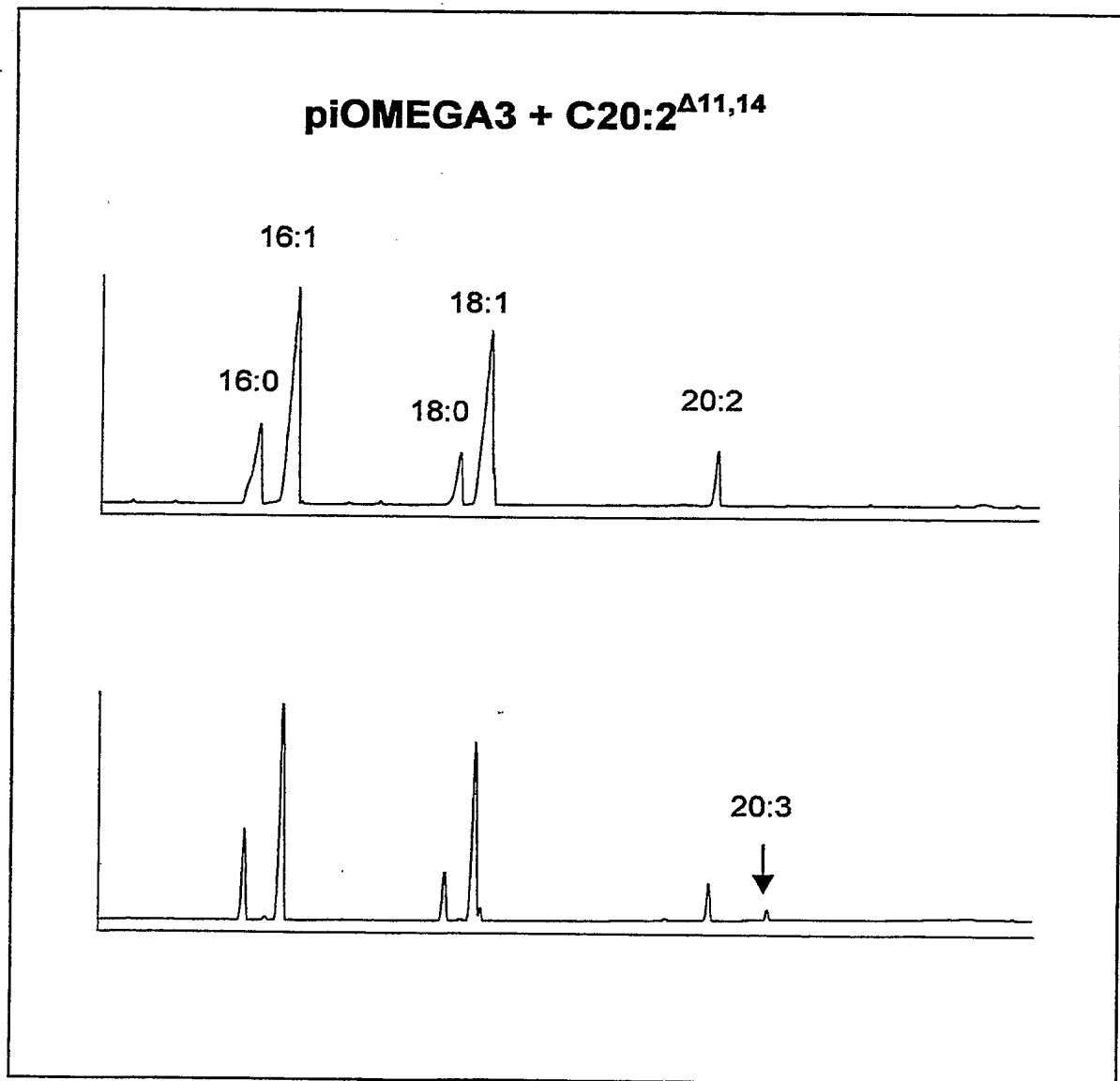
Figur 12: Desaturierung von Linolsäure (18:2 ω -6-Fettsäure) zu α -Linolensäure (18:3 ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



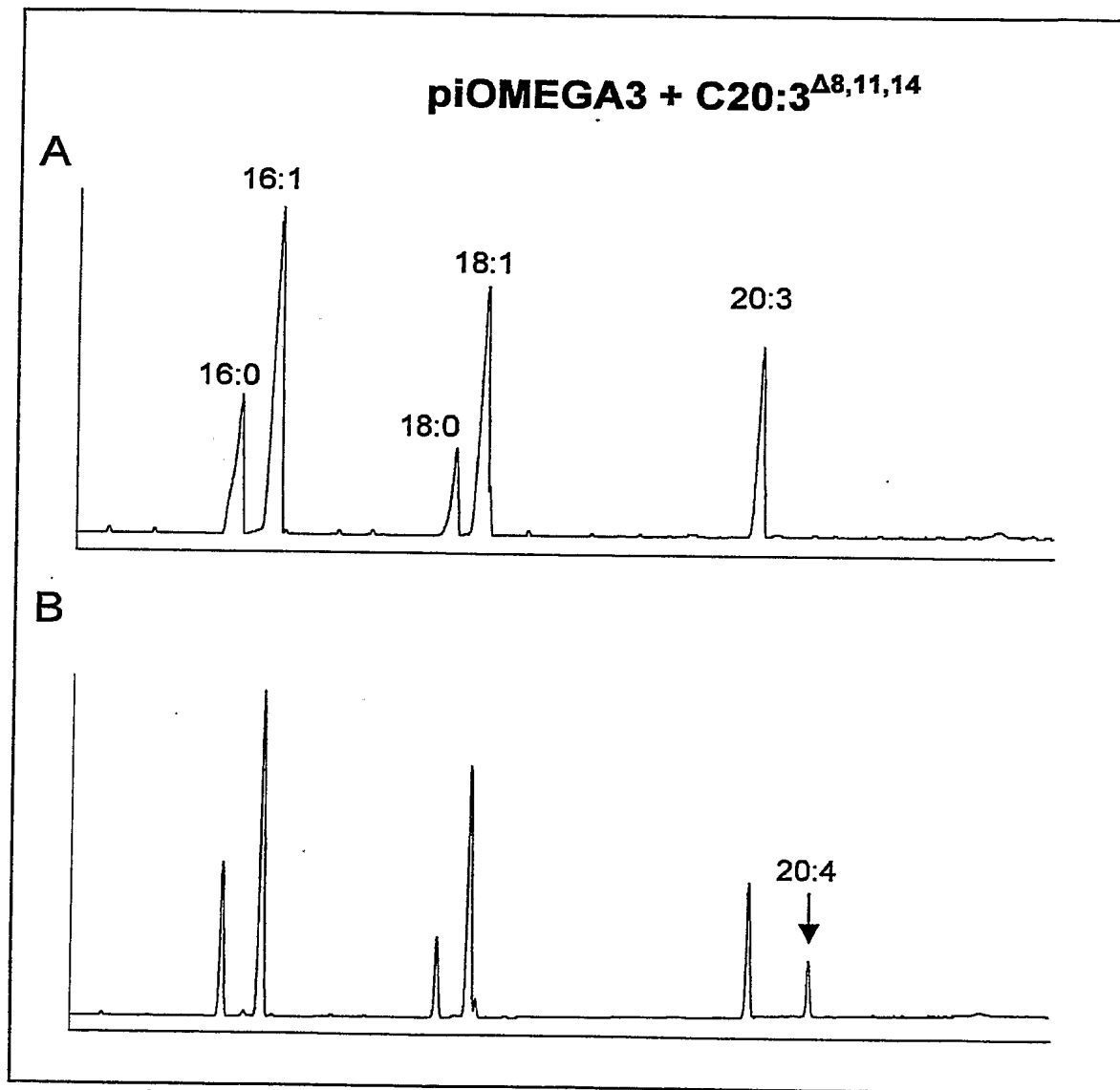
Figur 13: Desaturierung von γ -Linolensäure (18:3 ω -6-Fettsäure) zu Stearidonsäure (18:4 ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



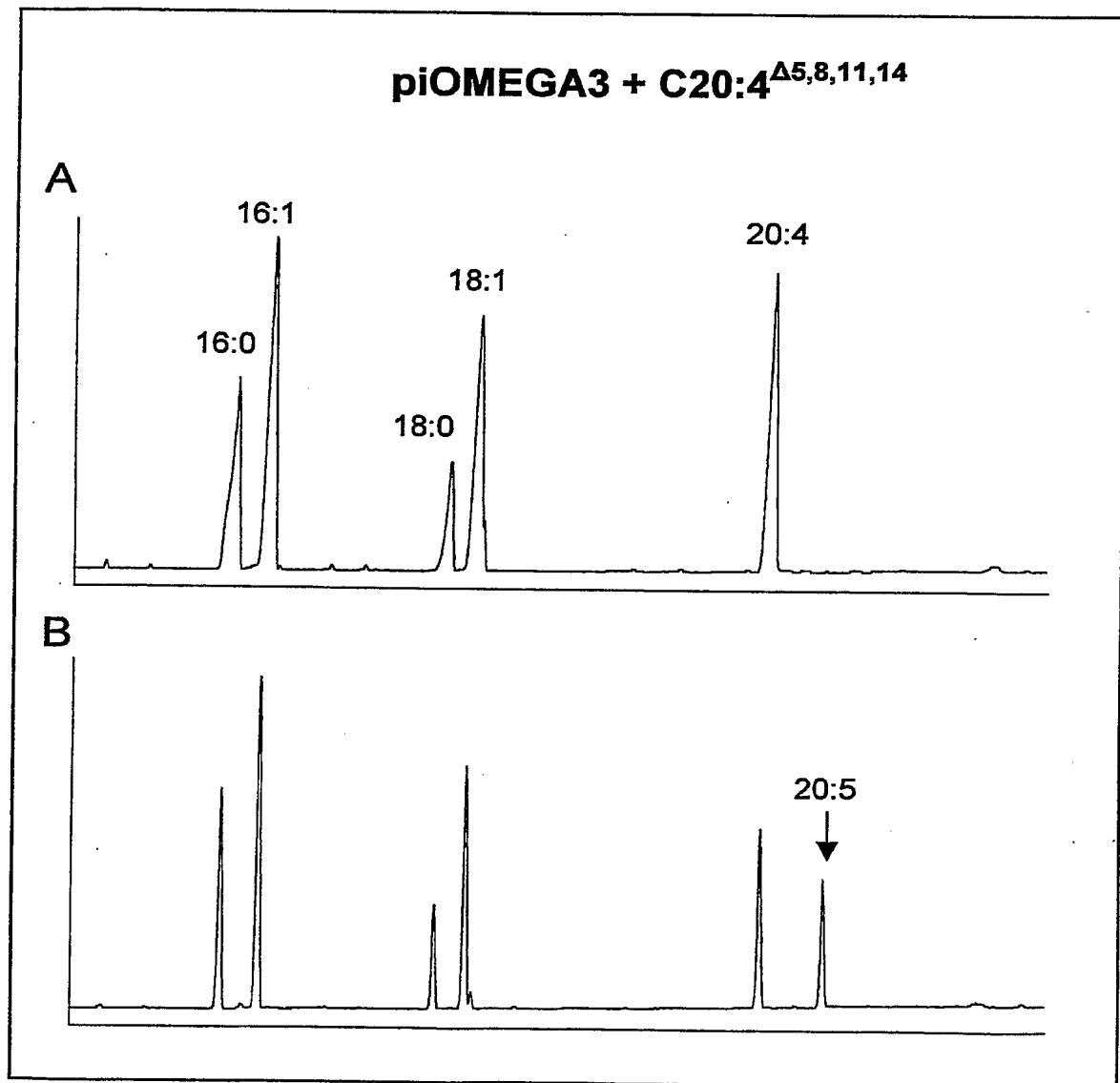
Figur 14: Desaturierung von C20:2 ω -6-Fettsäure zu C20:3 ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des.



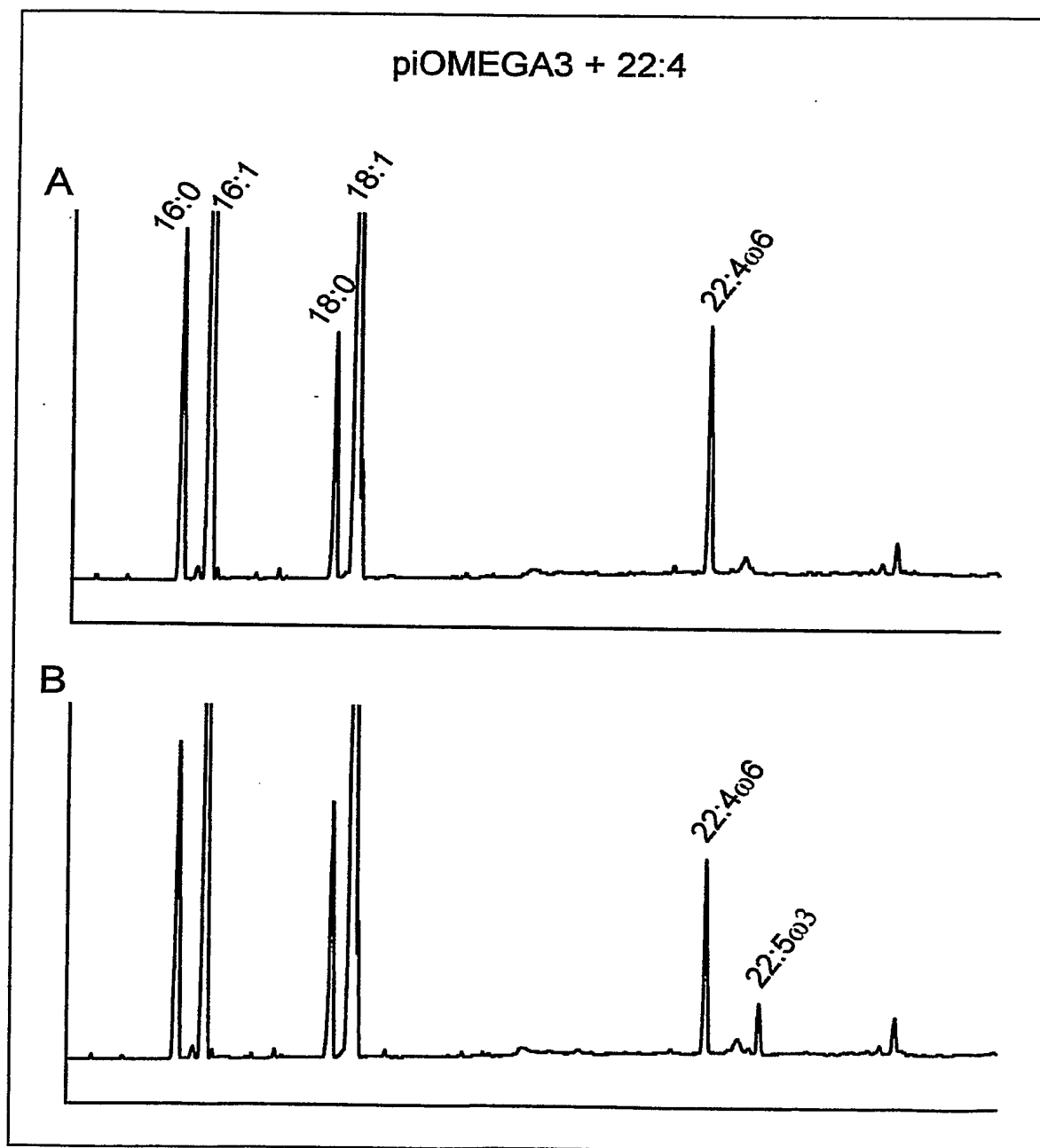
Figur 15: Desaturierung von C20:3- ω -6-Fettsäure zu C20:4- ω -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des.



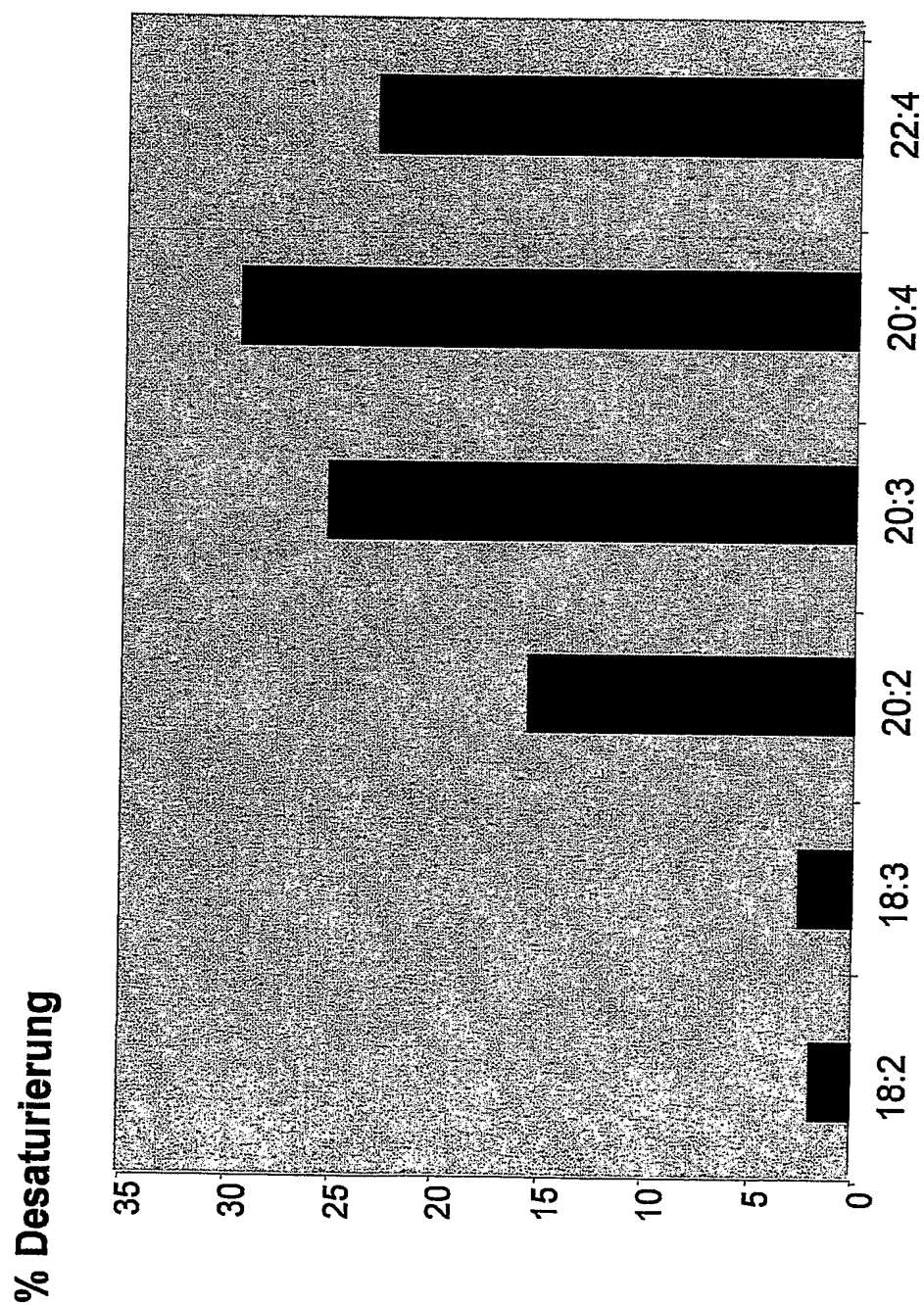
Figur 16: Desaturierung von Arachidonsäure (C20:4- ω -6-Fettsäure) zu Eicosapentaensäure (C20:5- ω -3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des.



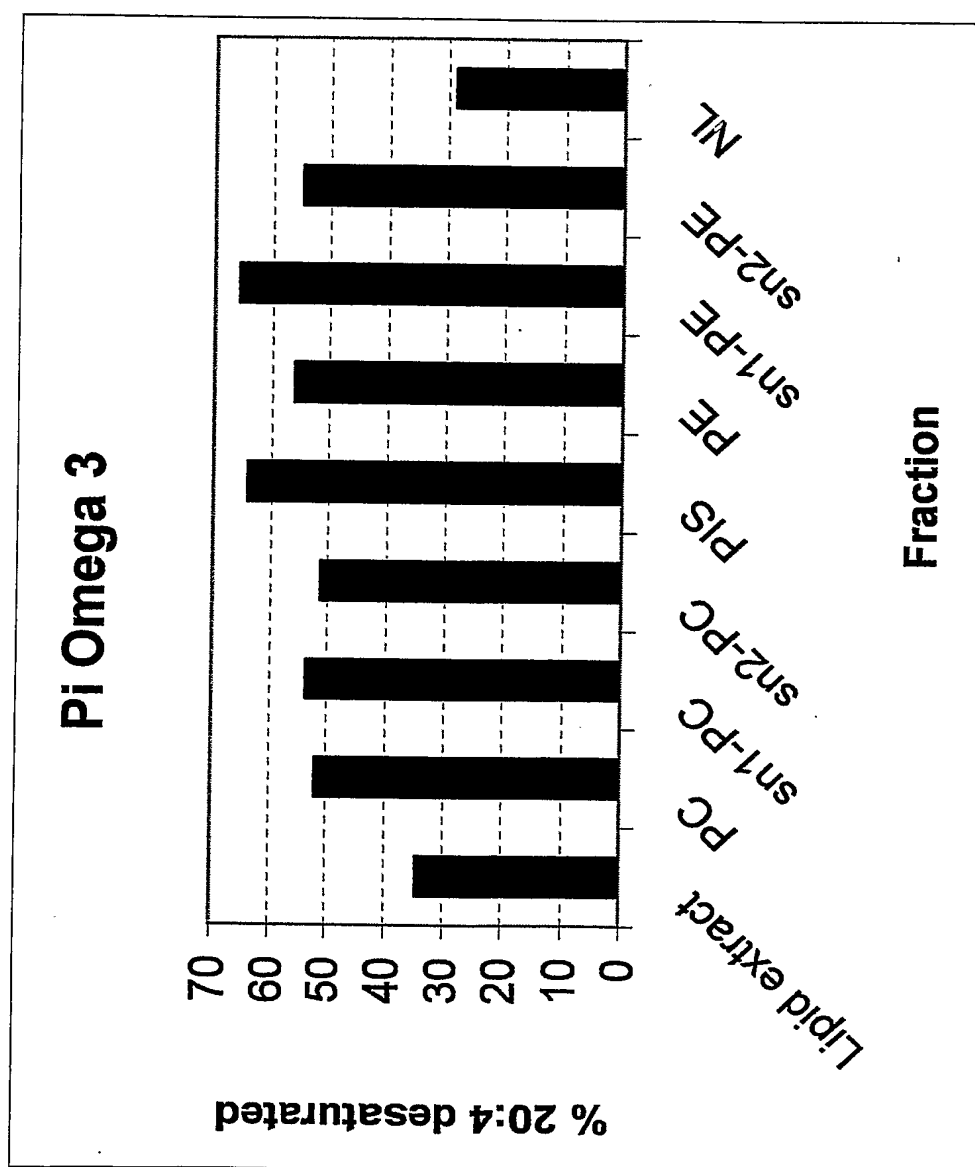
Figur 17: Desaturierung von Docosatetraensäure (C22:4- ω -6-Fettsäure) zu Docosapentaensäure (C22:5- ω -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



Figur 18: Substratspezifität der Pi-omega3Des gegenüber verschiedenen Fettsäuren

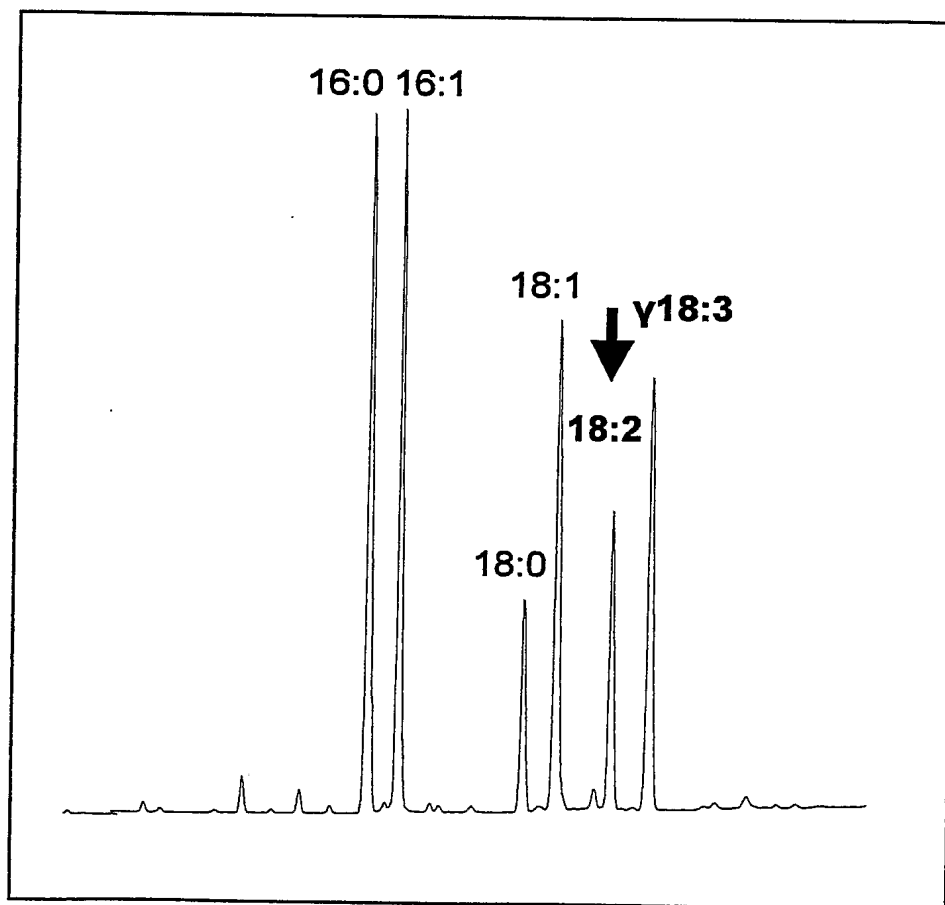


Figur 19: Desaturierung von Phospholipid gebundener Arachidonsäure zu EPA durch die Pi-Omega3Des



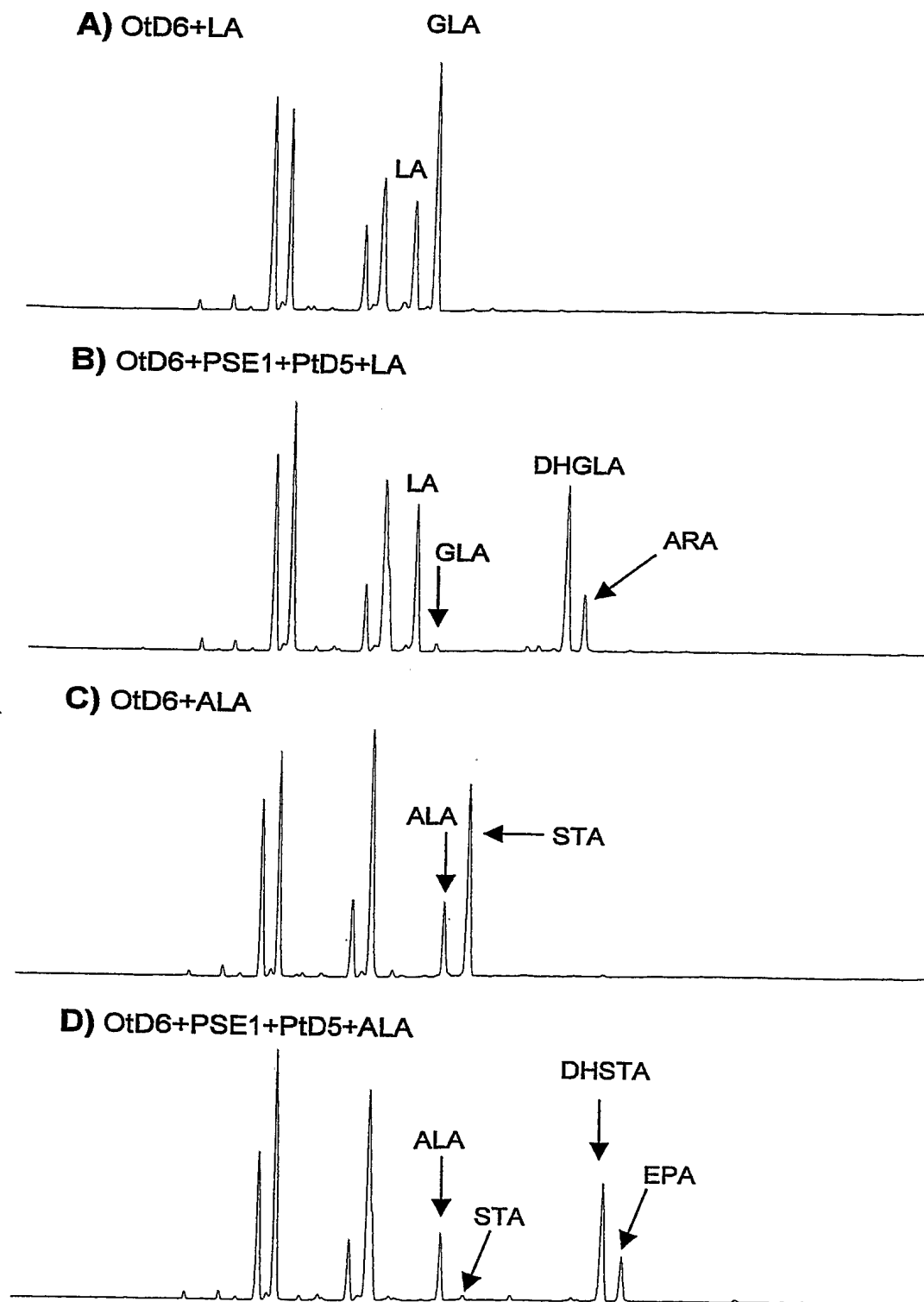
Figur 20: Umsetzung von Linolsäure (Pfeil) zu γ -Linolensäure (γ -18:3) durch Ot-Des6.1.

Absorption mAU



Retentionszeit

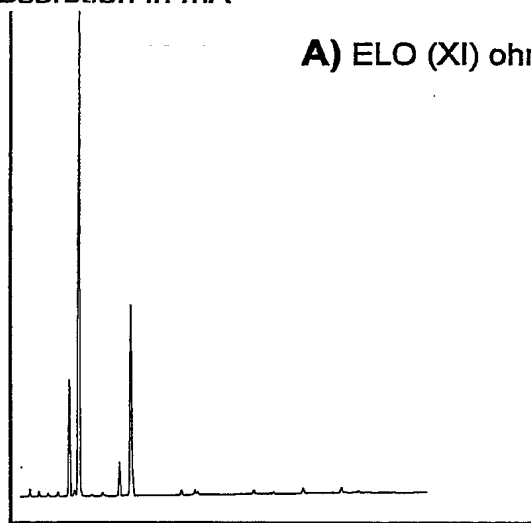
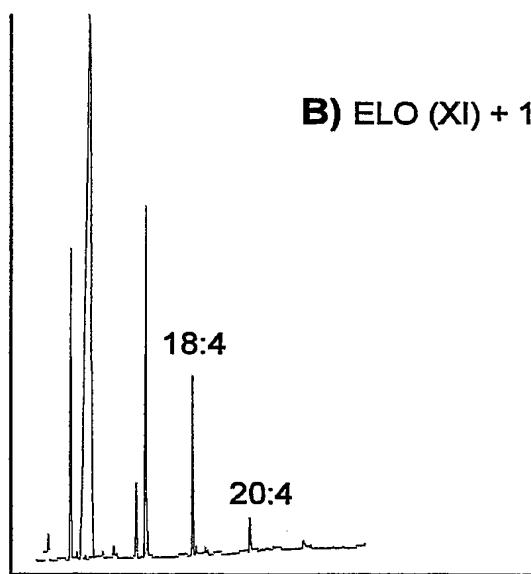
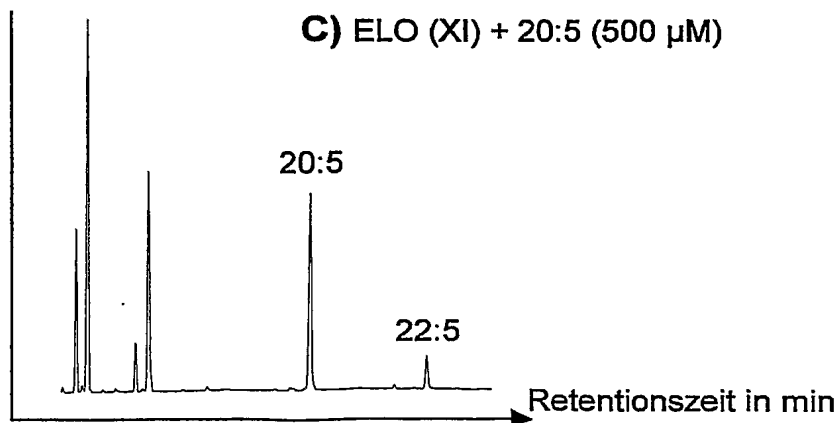
Figur 21: Umsetzung von Linolsäure und α -Linolensäure (A und C), sowie Rekonstitution des ARA- bzw. EPA-Syntheseweges in Hefe (B und D) in Gegenwart von OtD6.1.



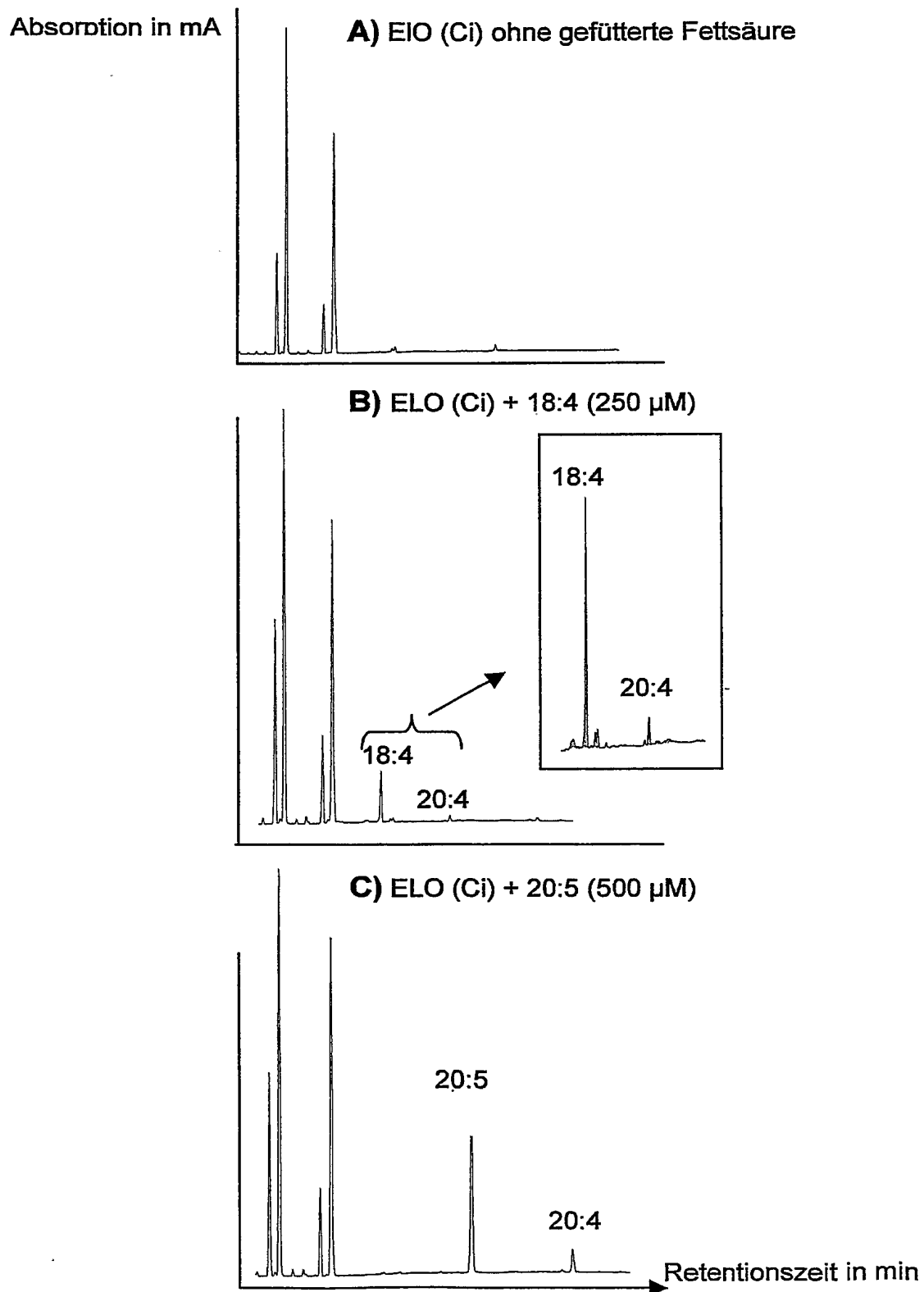
22/28

Figur 22: Expression von ELO(XI) in Hefe.

Absorption in mAU

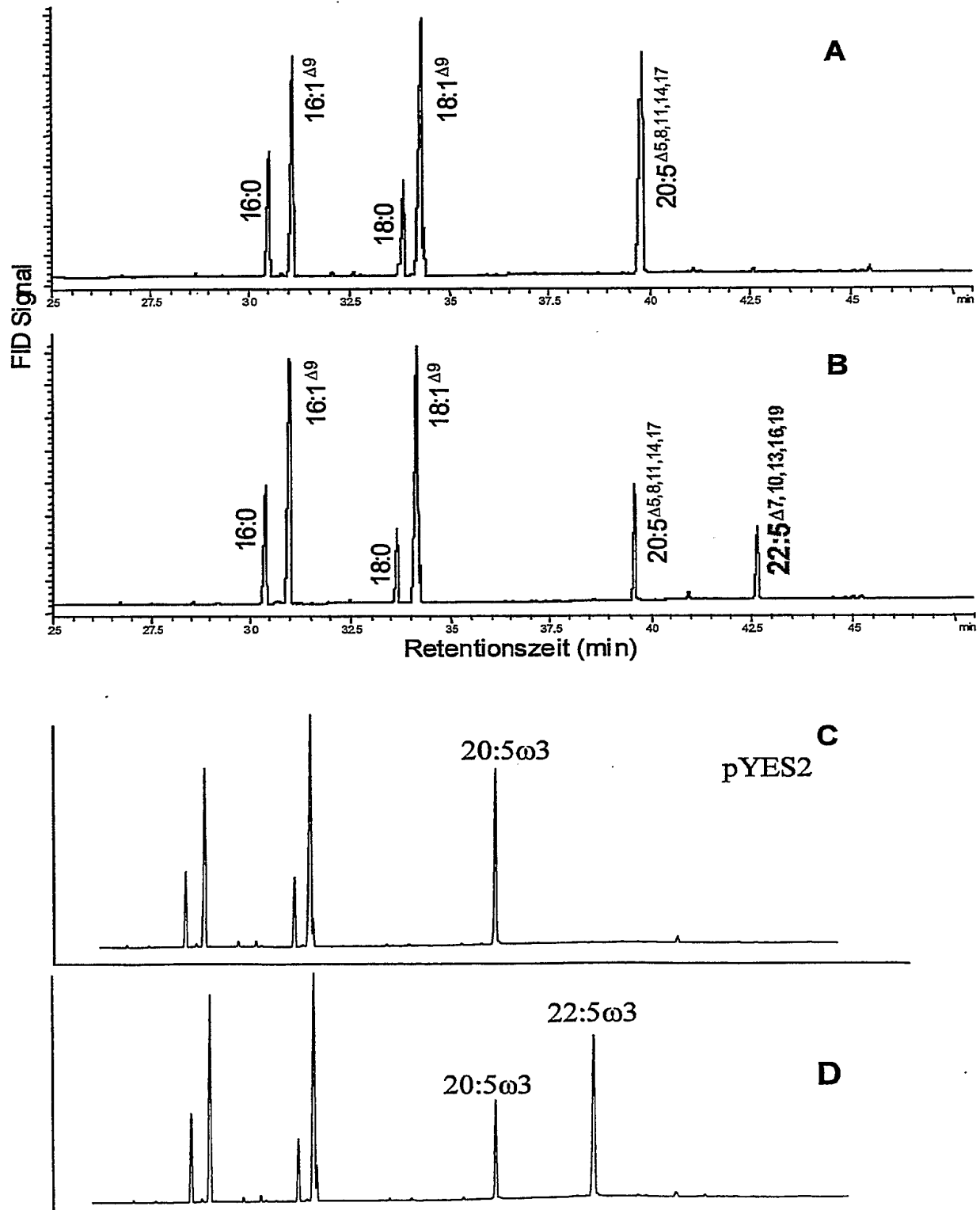
A) ELO (XI) ohne gefütterte Fettsäure**B)** ELO (XI) + 18:4 Δ 6,9,12,15 (250 μ M)**C)** ELO (XI) + 20:5 (500 μ M)

Figur 23:

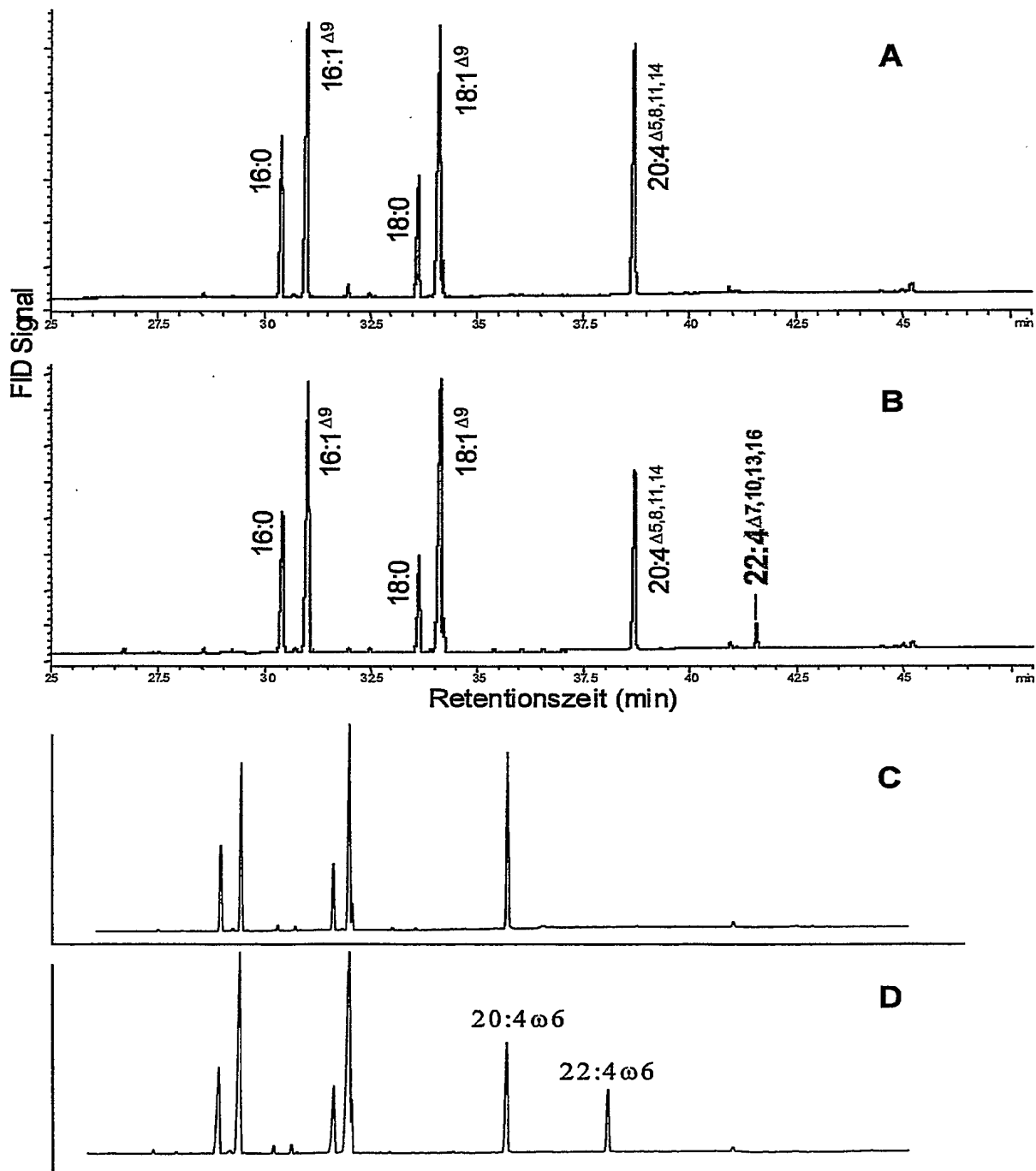


24/28

Figur 24: Elongation von Eicosapentaensäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D).
Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:5 ω 3).

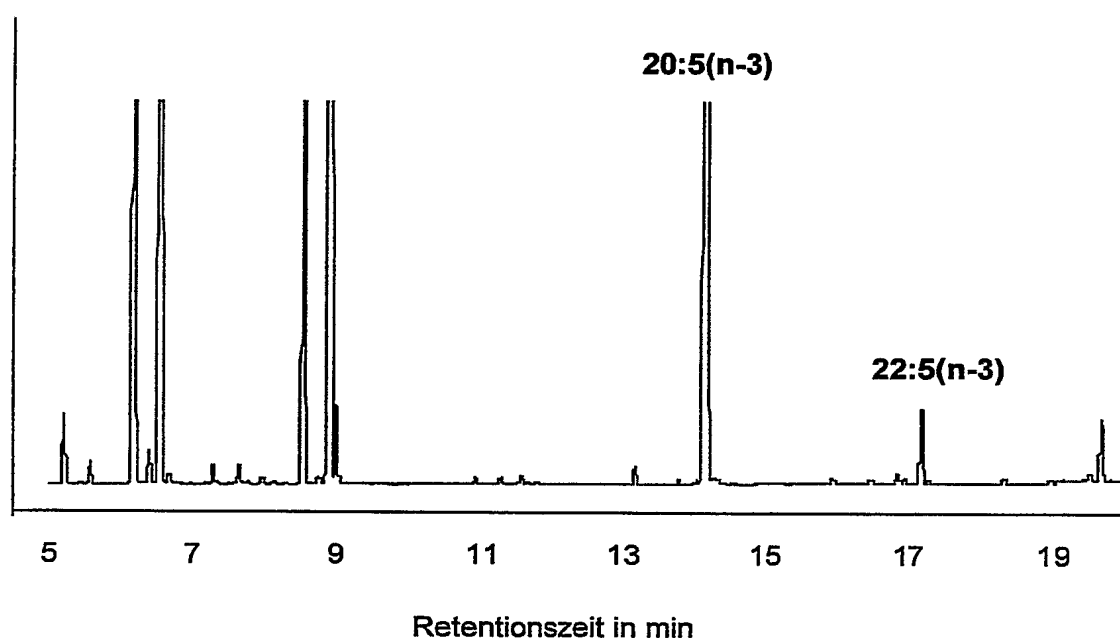


Figur 25: Elongation von Arachidonsäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D). Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:4 ω 6).



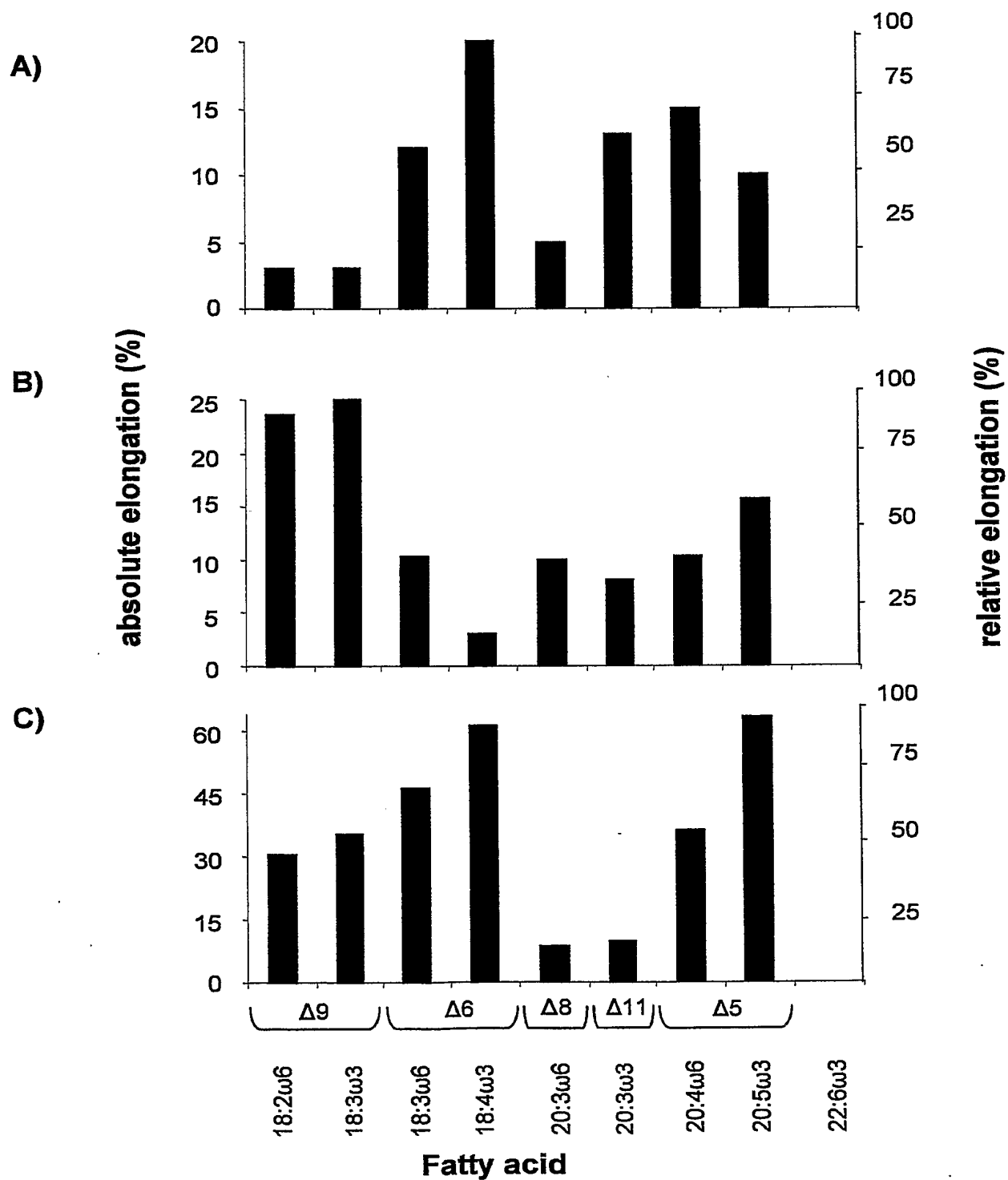
Figur 26: Elongation von 20:5n-3 durch die Elongasen At3g06470.

Absorption in mAU



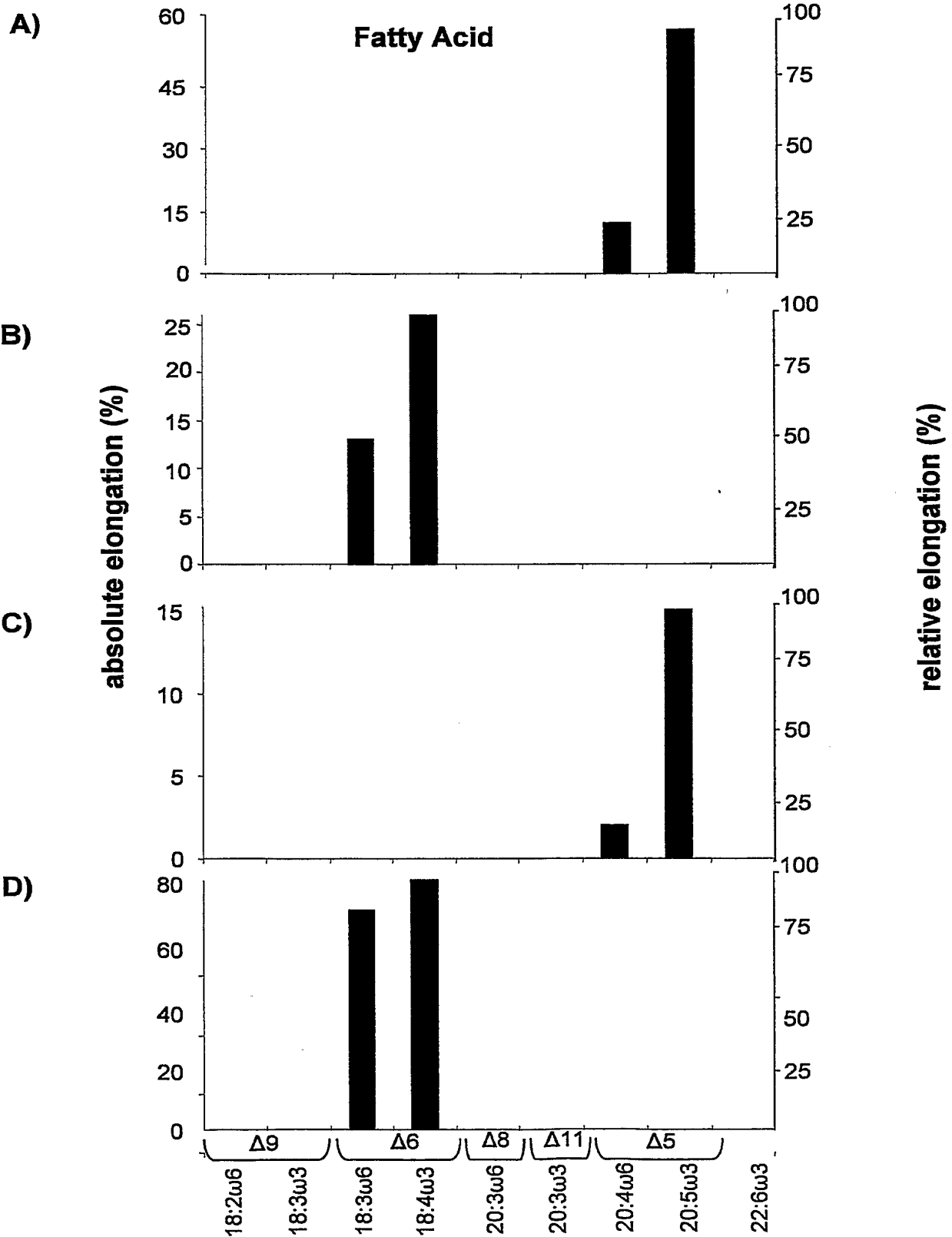
27/28

Figur 27: Substratspezifität der *Xenopus* Elongase (A), *Ciona* Elongase (B) und *Onchocorhynchus* Elongase (C)



28/28

Figur 28: Substratspezifität der *Ostreococcus* Δ -5-Elongase (A), der *Ostreococcus* Δ -6-Elongase (B), der *Thalassiosira* Δ -5-Elongase (C) und *Thalassiosira* *Ostreococcus* Δ -6-Elongase (D)



SEQUENCE LISTING

5 <110> BASF Plant Science GmbH

10 <120> Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in transgenen Organismen

15 <130> PF55563

<140> 20040304

20 <141> 2004-05-14

25 <160> 182

<170> PatentIn version 3:1

30 <210> 1

35 <211> 1266

<212> DNA

<213> *Euglena gracilis*

40 <220>

<221> CDS

45 <222> (1)..(1266)

<223> Delta-8-Desaturase

50 <400> 1

55	atg aag tca aag cgc caa gcg ctt ccc ctt aca att gat gga aca aca	48
	Met Lys Ser Lys Arg Gln Ala Leu Pro Leu Thr Ile Asp Gly Thr Thr	
	1 5 10 15	
60	tat gat gtg tct gcc tgg gtc aat ttc cac cct ggt ggt gcg gaa att	96
	Tyr Asp Val Ser Ala Trp Val Asn Phe His Pro Gly Gly Ala Glu Ile	
	20 25 30	
65	ata gag aat tac caa gga agg gat gcc act gat gcc ttc atg gtt atg	144
	Ile Glu Asn Tyr Gln Gly Arg Asp Ala Thr Asp Ala Phe Met Val Met	
	35 40 45	
70	cac tct caa gaa gcc ttc gac aag ctc aag cgc atg ccc aaa atc aat	192
	His Ser Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Lys Arg Met Pro Lys Ile Asn	
	50 55 60	
75	ccc agt tct gag ttg cca ccc cag gct gca gtg aat gaa gct caa gag	240
	Pro Ser Ser Glu Leu Pro Pro Gln Ala Ala Val Asn Glu Ala Gln Glu	
	65 70 75 80	
80	gat ttc cgg aag ctc cga gaa gag ttg atc gca act ggc atg ttt gat	288

2

	Asp	Phe	Arg	Lys	Leu	Arg	Glu	Glu	Leu	Ile	Ala	Thr	Gly	Met	Phe	Asp	
					85					90					95		
5	gcc	tcc	ccc	ctc	tgg	tac	tca	tac	aaa	atc	agc	acc	aca	ctg	ggc	ctt	336
	Ala	Ser	Pro	Leu	Trp	Tyr	Ser	Tyr	Lys	Ile	Ser	Thr	Thr	Leu	Gly	Leu	
				100					105					110			
10	gga	gtg	ctg	ggt	tat	ttc	ctg	atg	gtt	cag	tat	cag	atg	tat	ttc	att	384
	Gly	Val	Leu	Gly	Tyr	Phe	Leu	Met	Val	Gln	Tyr	Gln	Met	Tyr	Phe	Ile	
				115				120					125				
15	ggg	gca	gtg	ttg	ctt	ggg	atg	cac	tat	caa	cag	atg	ggc	tgg	ctt	tct	432
	Gly	Ala	Val	Leu	Leu	Gly	Met	His	Tyr	Gln	Gln	Met	Gly	Trp	Leu	Ser	
				130			135					140					
20	cat	gac	att	tgc	cac	cac	cag	act	ttc	aag	aac	cgg	aac	tgg	aac	aac	480
	His	Asp	Ile	Cys	His	His	Gln	Thr	Phe	Lys	Asn	Arg	Asn	Trp	Asn	Asn	
						150					155					160	
25	ctc	gtg	gga	ctg	gta	ttt	ggc	aat	ggt	ctg	caa	ggt	ttt	tcc	gtg	aca	528
	Leu	Val	Gly	Leu	Val	Phe	Gly	Asn	Gly	Leu	Gln	Gly	Phe	Ser	Val	Thr	
					165					170					175		
30	tgc	tgg	aag	gac	aga	cac	aat	gca	cat	cat	tcg	gca	acc	aat	gtt	caa	576
	Cys	Trp	Lys	Asp	Arg	His	Asn	Ala	His	His	Ser	Ala	Thr	Asn	Val	Gln	
				180					185					190			
35	ggg	cac	gac	cct	gat	att	gac	aac	ctc	ccc	ctc	tta	gcc	tgg	tct	gag	624
	Gly	His	Asp	Pro	Asp	Ile	Asp	Asn	Leu	Pro	Leu	Leu	Ala	Trp	Ser	Glu	
				195				200					205				
40	gat	gac	gtc	aca	cgg	gcg	tca	ccg	att	tcc	cgc	aag	ctc	att	cag	ttc	672
	Asp	Asp	Val	Thr	Arg	Ala	Ser	Pro	Ile	Ser	Arg	Lys	Leu	Ile	Gln	Phe	
				210			215					220					
45	cag	cag	tat	tat	ttc	ttg	gtc	atc	tgt	atc	ttg	ttg	cgg	ttc	att	tgg	720
	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Phe	Leu	Val	Ile	Cys	Ile	Leu	Leu	Arg	Phe	Ile	Trp	
						230				235						240	
50	tgt	ttc	cag	agc	gtg	ttg	acc	gtg	cgc	agt	ctg	aag	gac	aga	gat	aac	768
	Cys	Phe	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Arg	Ser	Leu	Lys	Asp	Arg	Asp	Asn	
					245				250						255		
55	caa	ttc	tat	cgc	tct	cag	tat	aag	aag	gag	gcc	att	ggc	ctc	gcc	ctg	816
	Gln	Phe	Tyr	Arg	Ser	Gln	Tyr	Lys	Lys	Glu	Ala	Ile	Gly	Leu	Ala	Leu	
				260				265						270			
60	cat	tgg	aca	ttg	aag	gcc	ctg	ttc	cac	tta	ttc	ttt	atg	ccc	agc	atc	864
	His	Trp	Thr	Leu	Lys	Ala	Leu	Phe	His	Leu	Phe	Phe	Met	Pro	Ser	Ile	
				275				280					285				
65	ctc	aca	tcg	ctg	ttg	gta	ttt	ttc	gtt	tcg	gag	ctg	gtt	ggc	ggc	ttc	912
	Leu	Thr	Ser	Leu	Leu	Val	Phe	Phe	Val	Ser	Glu	Leu	Val	Gly	Gly	Phe	
				290			295					300					
70	ggc	att	gcg	atc	gtg	gtg	ttc	atg	aac	cac	tac	cca	ctg	gag	aag	atc	960
	Gly	Ile	Ala	Ile	Val	Val	Phe	Met	Asn	His	Tyr	Pro	Leu	Glu	Lys	Ile	
						310					315					320	
75	ggg	gac	tcg	gtc	tgg	gat	ggc	cat	gga	ttc	tcg	gtt	ggc	cag	atc	cat	1008
	Gly	Asp	Ser	Val	Trp	Asp	Gly	His	Gly	Phe	Ser	Val	Gly	Gln	Ile	His	
					325				330					335			
80	gag	acc	atg	aac	att	cgg	cga	ggg	att	atc	aca	gat	tgg	ttt	ttc	gga	1056
	Glu	Thr	Met	Asn	Ile	Arg	Arg	Gly	Ile	Ile	Thr	Asp	Trp	Phe	Phe	Gly	
				340				345						350			
85	ggc	ttg	aac	tac	cag	atc	gag	cac	cat	ttg	tgg	ccg	acc	ctc	cct	cgc	1104
	Gly	Leu	Asn	Tyr	Gln	Ile	Glu	His	His	Leu	Trp	Pro	Thr	Leu	Pro	Arg	
				355				360					365				
90	cac	aac	ctg	aca	gcg	gtt	agc	tac	cag	gtg	gaa	cag	ctg	tgc	cag	aag	1152
	His	Asn	Leu	Thr	Ala	Val	Ser	Tyr	Gln	Val	Glu	Gln	Leu	Cys	Gln	Lys	

3

	370	375	380	
	cac aac ctg ccg tat cgg aac ccg ctg ccc cat gaa ggg ttg gtc atc			1200
5	His Asn Leu Pro Tyr Arg Asn Pro Leu Pro His Glu Gly Leu Val Ile			
	385	390	395	400
	ctg ctg cgc tat ctg gcg gtg ttc gcc cgg atg gcg gag aag caa ccc			1248
10	Leu Leu Arg Tyr Leu Ala Val Phe Ala Arg Met Ala Glu Lys Gln Pro			
		405	410	415
	gcg ggg aag gct cta taa			1266
	Ala Gly Lys Ala Leu			
		420		
15	<210> 2			
	<211> 421			
20	<212> PRT			
	<213> Euglena gracilis			
25	<400> 2			
	Met Lys Ser Lys Arg Gln Ala Leu Pro Leu Thr Ile Asp Gly Thr Thr			
30	1	5	10	15
	Tyr Asp Val Ser Ala Trp Val Asn Phe His Pro Gly Gly Ala Glu Ile			
		20	25	30
35	Ile Glu Asn Tyr Gln Gly Arg Asp Ala Thr Asp Ala Phe Met Val Met			
		35	40	45
40	His Ser Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Lys Arg Met Pro Lys Ile Asn			
		50	55	60
45	Pro Ser Ser Glu Leu Pro Pro Gln Ala Ala Val Asn Glu Ala Gln Glu			
		65	70	75
	Asp Phe Arg Lys Leu Arg Glu Glu Leu Ile Ala Thr Gly Met Phe Asp			
50		85	90	95
	Ala Ser Pro Leu Trp Tyr Ser Tyr Lys Ile Ser Thr Thr Leu Gly Leu			
		100	105	110
55	Gly Val Leu Gly Tyr Phe Leu Met Val Gln Tyr Gln Met Tyr Phe Ile			
		115	120	125
60	Gly Ala Val Leu Leu Gly Met His Tyr Gln Gln Met Gly Trp Leu Ser			
		130	135	140
65	His Asp Ile Cys His His Gln Thr Phe Lys Asn Arg Asn Trp Asn Asn			
		145	150	155
	Leu Val Gly Leu Val Phe Gly Asn Gly Leu Gln Gly Phe Ser Val Thr			
70		165	170	175
	Cys Trp Lys Asp Arg His Asn Ala His His Ser Ala Thr Asn Val Gln			
		180	185	190

5 Gly His Asp Pro Asp Ile Asp Asn Leu Pro Leu Leu Ala Trp Ser Glu
195 200 205

10 Asp Asp Val Thr Arg Ala Ser Pro Ile Ser Arg Lys Leu Ile Gln Phe
210 215 220

15 Gln Gln Tyr Tyr Phe Leu Val Ile Cys Ile Leu Leu Arg Phe Ile Trp
225 230 235 240

20 Cys Phe Gln Ser Val Leu Thr Val Arg Ser Leu Lys Asp Arg Asp Asn
245 250 255

25 Gln Phe Tyr Arg Ser Gln Tyr Lys Lys Glu Ala Ile Gly Leu Ala Leu
260 265 270

30 His Trp Thr Leu Lys Ala Leu Phe His Leu Phe Phe Met Pro Ser Ile
275 280 285

35 Leu Thr Ser Leu Leu Val Phe Phe Val Ser Glu Leu Val Gly Gly Phe
290 295 300

40 Gly Ile Ala Ile Val Val Phe Met Asn His Tyr Pro Leu Glu Lys Ile
305 310 315 320

45 Gly Asp Ser Val Trp Asp Gly His Gly Phe Ser Val Gly Gln Ile His
325 330 335

50 Glu Thr Met Asn Ile Arg Arg Gly Ile Ile Thr Asp Trp Phe Phe Gly
340 345 350

55 Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu Trp Pro Thr Leu Pro Arg
355 360 365

60 His Asn Leu Thr Ala Val Ser Tyr Gln Val Glu Gln Leu Cys Gln Lys
370 375 380

65 His Asn Leu Pro Tyr Arg Asn Pro Leu Pro His Glu Gly Leu Val Ile
385 390 395 400

70 Leu Leu Arg Tyr Leu Ala Val Phe Ala Arg Met Ala Glu Lys Gln Pro
405 410 415

Ala Gly Lys Ala Leu
420

<210> 3

<211> 777

<212> DNA

<213> Isochrysis galbana

<220>

<221> CDS

5 <222> (1)..(777)

<223> Delta-9-Elongase

10

<400> 3

atg gcc ctc gca aac gac gcg gga gag cgc atc tgg gcg gct gtg acc	48
Met Ala Leu Ala Asn Asp Ala Gly Glu Arg Ile Trp Ala Ala Val Thr	
1 5 10 15	

15

gac ccg gaa atc ctc att ggc acc ttc tcg tac ttg cta ctc aaa ccg	96
Asp Pro Glu Ile Leu Ile Gly Thr Phe Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Pro	
20 25 30	

20

ctg ctc cgc aat tcc ggg ctg gtg gat gag aag aag ggc gca tac agg	144
Leu Leu Arg Asn Ser Gly Leu Val Asp Glu Lys Lys Gly Ala Tyr Arg	
35 40 45	

25

acg tcc atg atc tgg tac aac gtt ctg ctg gcg ctc ttc tct gcg ctg	192
Thr Ser Met Ile Trp Tyr Asn Val Leu Leu Ala Leu Phe Ser Ala Leu	
50 55 60	

30

agc ttc tac gtg acg gcg acc gcc ctc ggc tgg gac tat ggt acg ggc	240
Ser Phe Tyr Val Thr Ala Thr Ala Leu Gly Trp Asp Tyr Gly Thr Gly	
65 70 75 80	

35

gcg tgg ctg cgc agg caa acc ggc gac aca ccg cag ccg ctc ttc cag	288
Ala Trp Leu Arg Arg Gln Thr Gly Asp Thr Pro Gln Pro Leu Phe Gln	
85 90 95	

40

tgc ccg tcc ccg gtt tgg gac tcg aag ctc ttc aca tgg acc gcc aag	336
Cys Pro Ser Pro Val Trp Asp Ser Lys Leu Phe Thr Trp Thr Ala Lys	
100 105 110	

45

gca ttc tat tac tcc aag tac gtg gag tac ctc gac acg gcc tgg ctg	384
Ala Phe Tyr Tyr Ser Lys Tyr Val Glu Tyr Leu Asp Thr Ala Trp Leu	
115 120 125	

50

agg gtc tcc ttt ctc cag gcc ttc cac cac ttt ggc gcg ccg tgg gat	432
Arg Val Ser Phe Leu Gln Ala Phe His His Phe Gly Ala Pro Trp Asp	
130 135 140	

55

gtg tac ctc ggc att cgg ctg cac aac gag ggc gta tgg atc ttc atg	480
Val Tyr Leu Gly Ile Arg Leu His Asn Glu Gly Val Trp Ile Phe Met	
145 150 155 160	

55

ttt ttc aac tcg ttc att cac acc atc atg tac acc tac tac ggc ctc	528
Phe Phe Asn Ser Phe Ile His Thr Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu	
165 170 175	

60

acc gcc gcc ggg tat aag ttc aag gcc aag ccg ctc atc acc gcg atg	576
Thr Ala Ala Gly Tyr Lys Phe Lys Ala Lys Pro Leu Ile Thr Ala Met	
180 185 190	

60

cag atc tgc cag ttc gtg ggc ggc ttc ctg ttg gtc tgg gac tac atc	624
Gln Ile Cys Gln Phe Val Gly Gly Phe Leu Leu Val Trp Asp Tyr Ile	
195 200 205	

65

aac gtc ccc tgc ttc aac tcg gac aaa ggg aag ttg ttc agc tgg gct	672
Asn Val Pro Cys Phe Asn Ser Asp Lys Gly Lys Leu Phe Ser Trp Ala	
210 215 220	

70

ttc aac tat gca tac gtc ggc tcg gtc ttc ttg ctc ttc tgc cac ttt	720
Phe Asn Tyr Ala Tyr Val Gly Ser Val Phe Leu Leu Phe Cys His Phe	
225 230 235 240	

ttc tac cag gac aac ttg gca acg aag aaa tcg gcc aag gcg ggc aag	768
Phe Tyr Gln Asp Asn Leu Ala Thr Lys Lys Ser Ala Lys Ala Gly Lys	

6

245

250

255

777

cag ctc tag
Gln Leu

5

<210> 4

10 <211> 258

<212> PRT

15 <213> Isochrysis galbana

<400> 4

20 Met Ala Leu Ala Asn Asp Ala Gly Glu Arg Ile Trp Ala Ala Val Thr
1 5 10 1525 Asp Pro Glu Ile Leu Ile Gly Thr Phe Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Pro
20 25 3030 Leu Leu Arg Asn Ser Gly Leu Val Asp Glu Lys Lys Gly Ala Tyr Arg
35 40 45Thr Ser Met Ile Trp Tyr Asn Val Leu Leu Ala Leu Phe Ser Ala Leu
50 55 6035 Ser Phe Tyr Val Thr Ala Thr Ala Leu Gly Trp Asp Tyr Gly Thr Gly
65 70 75 8040 Ala Trp Leu Arg Arg Gln Thr Gly Asp Thr Pro Gln Pro Leu Phe Gln
85 90 9545 Cys Pro Ser Pro Val Trp Asp Ser Lys Leu Phe Thr Trp Thr Ala Lys
100 105 11050 Ala Phe Tyr Tyr Ser Lys Tyr Val Glu Tyr Leu Asp Thr Ala Trp Leu
115 120 125Arg Val Ser Phe Leu Gln Ala Phe His His Phe Gly Ala Pro Trp Asp
130 135 14055 Val Tyr Leu Gly Ile Arg Leu His Asn Glu Gly Val Trp Ile Phe Met
145 150 155 16060 Phe Phe Asn Ser Phe Ile His Thr Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu
165 170 17565 Thr Ala Ala Gly Tyr Lys Phe Lys Ala Lys Pro Leu Ile Thr Ala Met
180 185 19070 Gln Ile Cys Gln Phe Val Gly Gly Phe Leu Leu Val Trp Asp Tyr Ile
195 200 205Asn Val Pro Cys Phe Asn Ser Asp Lys Gly Lys Leu Phe Ser Trp Ala
210 215 220

5 Phe Asn Tyr Ala Tyr Val Gly Ser Val Phe Leu Leu Phe Cys His Phe
 225 230 235 240
 Phe Tyr Gln Asp Asn Leu Ala Thr Lys Lys Ser Ala Lys Ala Gly Lys
 245 250 255
 10 Gln Leu
 15 <210> 5
 <211> 1410
 <212> DNA
 20 <213> *Phaeodactylum tricornutum*
 25 <220>
 <221> CDS
 30 <222> (1)..(1410)
 <223> Delta-5-Desaturase
 35 <400> 5
 atg gct ccg gat gcg gat aag ctt cga caa cgc cag acg act gcg gta 48
 Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val
 1 5 10 15
 40 gcg aag cac aat gct gct acc ata tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt 96
 Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser
 20 25 30
 45 ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa gtc tgc atc gac gga atc atc tat 144
 Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr
 35 40 45
 50 gac ctc caa tca ttc gat cat ccc ggg ggt gaa acg atc aaa atg ttt 192
 Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe
 50 55 60
 ggt ggc aac gat gtc act gta cag tac aag atg att cac ccg tac cat 240
 Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His
 65 70 75 80
 55 acc gag aag cat ttg gaa aag atg aag cgt gtc ggc aag gtg acg gat 288
 Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp
 85 90 95
 60 ttc gtc tgc gag tac aag ttc gat acc gaa ttt gaa cgc gaa atc aaa 336
 Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys
 100 105 110
 65 cga gaa gtc ttc aag att gtg cga cga ggc aag gat ttc ggt act ttg 384
 Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu
 115 120 125
 70 gga tgg ttc ttc cgt gcg ttt tgc tac att gcc att ttc ttc tac ctg 432
 Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu
 130 135 140
 cag tac cat tgg gtc acc acg gga acc tct tgg ctg ctg gcc gtg gcc 480
 Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala

8

	145		150		155		160	
5	tac gga atc tcc caa gcg atg att ggc atg aat gtc cag cac gat gcc Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala 165 170 175							528
10	aac cac ggg gcc acc tcc aag cgt ccc tgg gtc aac gac atg cta ggc Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly 180 185 190							576
15	ctc ggt gcg gat ttt att ggt ggt tcc aag tgg ctc tgg cag gaa caa Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln 195 200 205							624
20	cac tgg acc cac cac gct tac acc aat cac gcc gag atg gat ccc gat His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp 210 215 220							672
25	agc ttt ggt gcc gaa cca atg ctc cta ttc aac gac tat ccc ttg gat Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp 225 230 235 240							720
30	cat ccc gct cgt acc tgg cta cat cgc ttt caa gca ttc ttt tac atg His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met 245 250 255							768
35	ccc gtc ttg gct gga tac tgg ttg tcc gct gtc ttc aat cca caa att Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile 260 265 270							816
40	ctt gac ctc cag caa cgc ggc gca ctt tcc gtc ggt atc cgt ctc gac Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp 275 280 285							864
45	aac gct ttc att cac tcg cga cgc aag tat gcg gtt ttc tgg cgg gct Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala 290 295 300							912
50	gtg tac att gcg gtg aac gtg att gct ccg ttt tac aca aac tcc ggc Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly 305 310 315 320							960
55	ctc gaa tgg tcc tgg cgt gtc ttt gga aac atc atg ctc atg ggt gtg Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val 325 330 335							1008
60	gcg gaa tcg ctc gcg ctg gcg gtc ctg ttt tcg ttg tcg cac aat ttc Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe 340 345 350							1056
65	gaa tcc gcg gat cgc gat ccg acc gcc cca ctg aaa aag acg gga gaa Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu 355 360 365							1104
70	cca gtc gac tgg ttc aag aca cag gtc gaa act tcc tgc act tac ggt Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly 370 375 380							1152
75	gga ttc ctt tcc ggt tgc ttc acg gga ggt ctc aac ttt cag gtt gaa Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu 385 390 395 400							1200
80	cac cac ttg ttc cca cgc atg agc agc gct tgg tat ccc tac att gcc His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala 405 410 415							1248
85	ccc aag gtc cgc gaa att tgc gcc aaa cac ggc gtc cac tac gcc tac Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr 420 425 430							1296
90	tac ccg tgg atc cac caa aac ttt ctc tcc acc gtc cgc tac atg cac Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His 435 440 445							1344

gcg gcc ggg acc ggt gcc aac tgg cgc cag atg gcc aga gaa aat ccc 1392
 Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro
 450 455 460
 5 ttg acc gga cgg gcg taa 1410
 Leu Thr Gly Arg Ala
 465
 10 <210> 6
 <211> 469
 15 <212> PRT
 <213> *Phaeodactylum tricornutum*
 20 <400> 6
 Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val
 1 5 10 15
 25 Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser
 20 25 30
 30 Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr
 35 40 45
 35 Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe
 50 55 60
 40 Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His
 65 70 75 80
 Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp
 85 90 95
 45 Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys
 100 105 110
 50 Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu
 115 120 125
 55 Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu
 130 135 140
 60 Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala
 145 150 155 160
 Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala
 165 170 175
 65 Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly
 180 185 190
 70 Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln
 195 200 205

10

5 His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp
 210 215 220
 Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp
 225 230 235 240
 10 His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met
 245 250 255
 15 Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile
 260 265 270
 20 Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp
 275 280 285
 Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala
 290 295 300
 25 Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly
 305 310 315 320
 30 Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val
 325 330 335
 35 Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe
 340 345 350
 40 Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu
 355 360 365
 Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly
 370 375 380
 45 Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu
 385 390 395 400
 50 His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala
 405 410 415
 55 Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr
 420 425 430
 60 Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His
 435 440 445
 Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro
 450 455 460
 65 Leu Thr Gly Arg Ala
 465
 70 <210> 7
 <211> 1344

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

5

<220>

10

<221> CDS

<222> (1)..(1344)

<223> Delta-5-Desaturase

15

<400> 7

atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat 48
Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp
1 5 10 15

20

gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt 96
Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly
20 25 30

25

ggt agt gca att act acc tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc 144
Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe
35 40 45

30

cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa 192
His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu
50 55 60

35

ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag 240
Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys
65 70 75 80

40

gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat 288
Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn
85 90 95

45

att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta 336
Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu
100 105 110

50

cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe
115 120 125

55

tac att aga aaa att ctt gaa aca atc ttc aca att ctt ttt gca ttc 432
Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe
130 135 140

60

tac ctt caa tac cac aca tat tat ctt cca tca gct att cta atg gga 480
Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly
145 150 155 160

65

gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat 528
Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His
165 170 175

cag ttg ttc aaa aac aga tac tac aat gat ttg gcc agc tat ttc gtt 576
Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val
180 185 190

gga aac ttt tta caa gga ttc tca tct ggt ggt tgg aaa gag cag cac 624
Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His
195 200 205

70

aat gtg cat cac gca gcc aca aat gtt gtt gga cga gac gga gat ctt 672
Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu
210 215 220

12

	gat tta gtc cca ttc tat gct aca gtg gca gaa cat ctc aac aat tat	720
	Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr	
	225 230 235 240	
5	tct cag gat tca tgg gtt atg act cta ttc aga tgg caa cat gtt cat	768
	Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His	
	245 250 255	
10	tgg aca ttc atg tta cca ttc ctc cgt ctc tcg tgg ctt ctt cag tca	816
	Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Gln Ser	
	260 265 270	
15	atc att ttt gtt agt cag atg cca act cat tat tat gac tat tac aga	864
	Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg	
	275 280 285	
20	aat act gcg att tat gaa cag gtt ggt ctc tct ttg cac tgg gct tgg	912
	Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp	
	290 295 300	
25	tca ttg ggt caa ttg tat ttc cta ccc gat tgg tca act aga ata atg	960
	Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met	
	305 310 315 320	
30	gtt act ttc aat cat tat tca gtg gag aag ttt gca ttg agc tcg aac	1056
	Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn	
	340 345 350	
35	atc atg tca aat tac gct tgt ctt caa atc atg acc aca aga aat atg	1104
	Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met	
	355 360 365	
40	aga cct gga aga ttc att gac tgg ctt tgg gga ggt ctt aac tat cag	1152
	Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln	
	370 375 380	
45	att gag cac cat ctt ttc cca acg atg cca cga cac aac ttg aac act	1200
	Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr	
	385 390 395 400	
50	gtt atg cca ctt gtt aag gag ttt gca gca gca aat ggt tta cca tac	1248
	Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr	
	405 410 415	
55	atg gtc gac gat tat ttc aca gga ttc tgg ctt gaa att gag caa ttc	1296
	Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe	
	420 425 430	
60	cga aat att gca aat gtt gct gct aaa ttg act aaa aag att gcc tag	1344
	Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala	
	435 440 445	
	<210> 8	
65	<211> -447	
	<212> PRT	
	<213> Ceratodon purpureus	
	<400> 8	
70	Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp	
	1 5 10 15	

13

	Gly	Lys	Trp	Cys	Gln	Ile	Asp	Asp	Ala	Val	Leu	Arg	Ser	His	Pro	Gly	
				20					25					30			
5	Gly	Ser	Ala	Ile	Thr	Thr	Tyr	Lys	Asn	Met	Asp	Ala	Thr	Thr	Val	Phe	
			35					40					45				
10	His	Thr	Phe	His	Thr	Gly	Ser	Lys	Glu	Ala	Tyr	Gln	Trp	Leu	Thr	Glu	
		50					55					60					
15	Leu	Lys	Lys	Glu	Cys	Pro	Thr	Gln	Glu	Pro	Glu	Ile	Pro	Asp	Ile	Lys	
	65					70					75					80	
20	Asp	Asp	Pro	Ile	Lys	Gly	Ile	Asp	Asp	Val	Asn	Met	Gly	Thr	Phe	Asn	
					85					90					95		
25	Ile	Ser	Glu	Lys	Arg	Ser	Ala	Gln	Ile	Asn	Lys	Ser	Phe	Thr	Asp	Leu	
				100					105					110			
30	Arg	Met	Arg	Val	Arg	Ala	Glu	Gly	Leu	Met	Asp	Gly	Ser	Pro	Leu	Phe	
			115					120					125				
35	Tyr	Ile	Arg	Lys	Ile	Leu	Glu	Thr	Ile	Phe	Thr	Ile	Leu	Phe	Ala	Phe	
		130					135					140					
40	Tyr	Leu	Gln	Tyr	His	Thr	Tyr	Tyr	Leu	Pro	Ser	Ala	Ile	Leu	Met	Gly	
	145					150					155					160	
45	Val	Ala	Trp	Gln	Gln	Leu	Gly	Trp	Leu	Ile	His	Glu	Phe	Ala	His	His	
					165					170					175		
50	Gln	Leu	Phe	Lys	Asn	Arg	Tyr	Tyr	Asn	Asp	Leu	Ala	Ser	Tyr	Phe	Val	
				180					185					190			
55	Gly	Asn	Phe	Leu	Gln	Gly	Phe	Ser	Ser	Gly	Gly	Trp	Lys	Glu	Gln	His	
			195					200					205				
60	Asn	Val	His	His	Ala	Ala	Thr	Asn	Val	Val	Gly	Arg	Asp	Gly	Asp	Leu	
		210					215					220					
65	Asp	Leu	Val	Pro	Phe	Tyr	Ala	Thr	Val	Ala	Glu	His	Leu	Asn	Asn	Tyr	
	225					230					235					240	
70	Ser	Gln	Asp	Ser	Trp	Val	Met	Thr	Leu	Phe	Arg	Trp	Gln	His	Val	His	
					245					250					255		
75	Trp	Thr	Phe	Met	Leu	Pro	Phe	Leu	Arg	Leu	Ser	Trp	Leu	Leu	Gln	Ser	
				260					265					270			
80	Ile	Ile	Phe	Val	Ser	Gln	Met	Pro	Thr	His	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Tyr	Arg	
			275					280					285				
85	Asn	Thr	Ala	Ile	Tyr	Glu	Gln	Val	Gly	Leu	Ser	Leu	His	Trp	Ala	Trp	
		290					295					300					
90	Ser	Leu	Gly	Gln	Leu	Tyr	Phe	Leu	Pro	Asp	Trp	Ser	Thr	Arg	Ile	Met	

14

	305		310		315		320	
5	Phe Phe Leu Val	Ser His Leu Val	Gly Gly Phe Leu Leu	Ser His Val				
		325	330	335				
10	Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val	Glu Lys Phe Ala Leu	Ser Ser Asn					
		340	345	350				
15	Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr	Arg Asn Met						
		355	360	365				
20	Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln							
		370	375	380				
25	Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr							
		385	390	395				
30	Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr							
		405	410	415				
35	Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe							
		420	425	430				
40	Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala							
		435	440	445				
45	<210>	9						
	<211>	1443						
50	<212>	DNA						
	<213>	Physcomitrella patens						
55	<220>							
	<221>	CDS						
60	<222>	(1)..(1443)						
	<223>	Delta-5-Desaturase						
65	<400>	9						
	atg gcg ccc cac tct gcg gat act gct ggg ctc gtg cct tct gac gaa							48
	Met Ala Pro His Ser Ala Asp Thr Ala Gly Leu Val Pro Ser Asp Glu							
	1 5 10 15							
70	ttg agg cta cga acg tcg aat tca aag ggt ccc gaa caa gag caa act							96
	Leu Arg Leu Thr Ser Asn Ser Lys Gly Pro Glu Gln Glu Gln Thr							
	20 25 30							
75	ttg aag aag tac acc ctt gaa gat gtc agc cgc cac aac acc cca gca							144
	Leu Lys Lys Tyr Thr Leu Glu Asp Val Ser Arg His Asn Thr Pro Ala							
	35 40 45							
80	gat tgt tgg ttg gtg ata tgg ggc aaa gtc tac gat gtc aca agc tgg							192
	Asp Cys Trp Leu Val Ile Trp Gly Lys Val Tyr Asp Val Thr Ser Trp							
	50 55 60							
	att ccc aat cat ccg ggg ggc agt ctc atc cac gta aaa gca ggg cag							240

15

	Ile 65	Pro	Asn	His	Pro	Gly 70	Gly	Ser	Leu	Ile 75	His	Val	Lys	Ala	Gly	Gln 80	
5	gat Asp	tcc Ser	act Thr	cag Gln	ctt Leu	ttc Phe	gat Asp	tcc Ser	tat Tyr	cac His	ccc Pro	ctt Leu	tat Tyr	gtc Val	agg Arg	aaa Lys	288
10	atg Met	ctc Leu	gcg Ala	aag Lys	tac Tyr	tgt Cys	att Ile	ggg Gly	gaa Glu	tta Leu	gta Val	ccg Pro	tct Ser	gct Ala	ggg Gly	gat Asp	336
15	gac Asp	aag Lys	ttt Phe	aag Lys	aaa Lys	gca Ala	act Thr	ctg Leu	gag Glu	tat Tyr	gca Ala	gat Asp	gcc Ala	gaa Glu	aat Asn	gaa Glu	384
20	gat Asp	ttc Phe	tat Tyr	ttg Leu	gtt Val	gtg Val	aag Lys	caa Gln	cga Arg	gtt Val	gaa Glu	tct Ser	tat Tyr	ttc Phe	aag Lys	agt Ser	432
25	aac Asn	aag Lys	ata Ile	aac Asn	ccc Pro	caa Gln	att Ile	cat His	cca Pro	cat His	atg Met	atc Ile	ctg Leu	aag Lys	tca Ser	ttg Leu	480
30	ttc Phe	att Ile	ctt Leu	ggg Gly	gga Gly	tat Tyr	ttc Phe	gcc Ala	agt Ser	tac Tyr	tat Tyr	tta Leu	gcg Ala	ttc Phe	ttc Phe	tgg Trp	528
35	tct Ser	tca Ser	agt Ser	gtc Val	ctt Leu	gtt Val	tct Ser	ttg Leu	ttt Phe	ttc Phe	gca Ala	ttg Leu	tgg Trp	atg Met	ggg Gly	ttc Phe	576
40	ttc Phe	gca Ala	gcg Ala	gaa Glu	gtc Val	ggc Gly	gtg Val	tgc Ser	att Ile	caa Gln	cat His	gat Asp	gga Gly	aat Asn	cat His	ggg Gly	624
45	tca Ser	tac Tyr	act Thr	aaa Lys	tgg Trp	cgt Arg	ggc Gly	ttt Phe	gga Gly	tat Tyr	atc Ile	atg Met	gga Gly	gcc Ala	tcc Ser	cta Leu	672
50	gat Asp	cta Leu	gtc Val	gga Gly	gcc Ala	agt Ser	agc Ser	ttc Phe	atg Met	tgg Trp	aga Arg	cag Gln	caa Gln	cac His	gtt Val	gtg Val	720
55	gga Gly	cat His	cac His	tcg Ser	ttt Phe	aca Thr	aat Asn	gtg Val	gac Asp	aac Asn	tac Tyr	gat Asp	cct Pro	gat Asp	att Ile	cgt Arg	768
60	gtg Val	aaa Lys	gat Asp	cca Pro	gat Asp	gtc Val	agg Arg	agg Arg	gtt Val	gcg Ala	acc Thr	aca Thr	caa Gln	cca Pro	aga Arg	caa Gln	816
65	tgg Trp	tat Tyr	cat His	gcg Ala	tat Tyr	cag Gln	cat His	atc Ile	tac Tyr	ctg Leu	gca Ala	gta Val	tta Leu	tat Tyr	gga Gly	act Thr	864
70	cta Leu	gct Ala	ctt Leu	aag Lys	agt Ser	att Ile	ttt Phe	cta Leu	gat Asp	gat Asp	ttc Phe	ctt Leu	gcg Ala	tac Tyr	ttc Phe	aca Thr	912
75	gga Gly	tca Ser	att Ile	ggc Gly	cct Pro	gtc Val	aag Lys	gtg Val	gcg Ala	aaa Lys	atg Met	acc Thr	ccc Pro	ctg Leu	gag Glu	ttc Phe	960
80	aac Asn	atc Ile	ttc Phe	ttt Phe	cag Gln	gga Gly	aag Lys	ctg Leu	cta Leu	tat Tyr	gcg Ala	ttc Phe	tac Tyr	atg Met	ttc Phe	gtg Val	1008
85	ttg Leu	cca Pro	tct Ser	gtg Val	tac Tyr	ggg Gly	gtt Val	cac His	tcc Ser	gga Gly	gga Gly	act Thr	ttc Phe	ttg Leu	gca Ala	cta Leu	1056
90	tat Tyr	gtg Val	gct Ala	tct Ser	cag Gln	ctc Leu	att Ile	aca Thr	ggg Gly	tgg Trp	atg Met	tta Leu	gct Ala	ttt Phe	ctt Leu	ttt Phe	1104

16

	355	360	365	
5	caa gta gca cat gtc gtg gat gat gtt gca ttt cct aca cca gaa ggt Gln Val Ala His Val Val Asp Asp Val Ala Phe Pro Thr Pro Glu Gly 370 375 380			1152
10	ggg aag gtg aag gga gga tgg gct gca atg cag gtt gca aca act acg Gly Lys Val Lys Gly Gly Trp Ala Ala Met Gln Val Ala Thr Thr Thr 385 390 395 400			1200
15	gat ttc agt cca cgc tca tgg ttc tgg ggt cat gtc tct gga gga tta Asp Phe Ser Pro Arg Ser Trp Phe Trp Gly His Val Ser Gly Gly Leu 405 410 415			1248
20	aac aac caa att gag cat cat ctg ttt cca gga gtg tgc cat gtt cat Asn Asn Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Gly Val Cys His Val His 420 425 430			1296
25	tat cca gcc att cag cct att gtc gag aag acg tgc aag gaa ttc gat Tyr Pro Ala Ile Gln Pro Ile Val Glu Lys Thr Cys Lys Glu Phe Asp 435 440 445			1344
30	gtg cct tat gta gcc tac cca act ttt tgg act gcg ttg aga gcc cac Val Pro Tyr Val Ala Tyr Pro Thr Phe Trp Thr Ala Leu Arg Ala His 450 455 460			1392
35	ttt gcg cat ttg aaa aag gtt gga ttg aca gag ttt cgg ctc gat ggc Phe Ala His Leu Lys Lys Val Gly Leu Thr Glu Phe Arg Leu Asp Gly 465 470 475 480			1440
40	tga			1443
45	<210> 10			
50	<211> 480			
55	<212> PRT			
60	<213> Physcomitrella patens			
65	<400> 10			
70	Met Ala Pro His Ser Ala Asp Thr Ala Gly Leu Val Pro Ser Asp Glu 1 5 10 15			
75	Leu Arg Leu Arg Thr Ser Asn Ser Lys Gly Pro Glu Gln Glu Gln Thr 20 25 30			
80	Leu Lys Lys Tyr Thr Leu Glu Asp Val Ser Arg His Asn Thr Pro Ala 35 40 45			
85	Asp Cys Trp Leu Val Ile Trp Gly Lys Val Tyr Asp Val Thr Ser Trp 50 55 60			
90	Ile Pro Asn His Pro Gly Gly Ser Leu Ile His Val Lys Ala Gly Gln 65 70 75 80			
95	Asp Ser Thr Gln Leu Phe Asp Ser Tyr His Pro Leu Tyr Val Arg Lys 85 90 95			
100	Met Leu Ala Lys Tyr Cys Ile Gly Glu Leu Val Pro Ser Ala Gly Asp 100 105 110			

17

Asp Lys Phe Lys Lys Ala Thr Leu Glu Tyr Ala Asp Ala Glu Asn Glu
 115 120 125

5 Asp Phe Tyr Leu Val Val Lys Gln Arg Val Glu Ser Tyr Phe Lys Ser
 130 135 140

10 Asn Lys Ile Asn Pro Gln Ile His Pro His Met Ile Leu Lys Ser Leu
 145 150 155 160

Phe Ile Leu Gly Gly Tyr Phe Ala Ser Tyr Tyr Leu Ala Phe Phe Trp
 165 170 175

15 Ser Ser Ser Val Leu Val Ser Leu Phe Phe Ala Leu Trp Met Gly Phe
 180 185 190

20 Phe Ala Ala Glu Val Gly Val Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly
 195 200 205

25 Ser Tyr Thr Lys Trp Arg Gly Phe Gly Tyr Ile Met Gly Ala Ser Leu
 210 215 220

30 Asp Leu Val Gly Ala Ser Ser Phe Met Trp Arg Gln Gln His Val Val
 225 230 235 240

Gly His His Ser Phe Thr Asn Val Asp Asn Tyr Asp Pro Asp Ile Arg
 245 250 255

35 Val Lys Asp Pro Asp Val Arg Arg Val Ala Thr Thr Gln Pro Arg Gln
 260 265 270

40 Trp Tyr His Ala Tyr Gln His Ile Tyr Leu Ala Val Leu Tyr Gly Thr
 275 280 285

45 Leu Ala Leu Lys Ser Ile Phe Leu Asp Asp Phe Leu Ala Tyr Phe Thr
 290 295 300

50 Gly Ser Ile Gly Pro Val Lys Val Ala Lys Met Thr Pro Leu Glu Phe
 305 310 315 320

Asn Ile Phe Phe Gln Gly Lys Leu Leu Tyr Ala Phe Tyr Met Phe Val
 325 330 335

55 Leu Pro Ser Val Tyr Gly Val His Ser Gly Gly Thr Phe Leu Ala Leu
 340 345 350

60 Tyr Val Ala Ser Gln Leu Ile Thr Gly Trp Met Leu Ala Phe Leu Phe
 355 360 365

65 Gln Val Ala His Val Val Asp Asp Val Ala Phe Pro Thr Pro Glu Gly
 370 375 380

70 Gly Lys Val Lys Gly Gly Trp Ala Ala Met Gln Val Ala Thr Thr Thr
 385 390 395 400

Asp Phe Ser Pro Arg Ser Trp Phe Trp Gly His Val Ser Gly Gly Leu

18

	405	410	415	
5	Asn Asn Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Gly Val Cys His Val His 420 425 430			
10	Tyr Pro Ala Ile Gln Pro Ile Val Glu Lys Thr Cys Lys Glu Phe Asp 435 440 445			
15	Val Pro Tyr Val Ala Tyr Pro Thr Phe Trp Thr Ala Leu Arg Ala His 450 455 460			
20	Phe Ala His Leu Lys Lys Val Gly Leu Thr Glu Phe Arg Leu Asp Gly 465 470 475 480			
25	<210> 11 <211> 1320 <212> DNA <213> Thraustrochytrium			
30	<220> <221> CDS <222> (1)..(1320) <223>			
40	<400> 11 atg ggc aag ggc agc gag ggc cgc agc ggc ggc cgc gag atg acg gcc Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala 1 5 10 15			48
45	gag ggc aac ggc gac aag cgg aaa acg att ctg atc gag ggc gtc ctg Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu 20 25 30			96
50	tac gac ggc acg aac ttt aag cac ccg ggc ggt tcg atc atc aac ttc Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe 35 40 45			144
55	ttg acc gag ggc gag gcc ggc gtg gac ggc acg cag ggc tac cgc gag Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu 50 55 60			192
60	ttt cat cag cgg tcc ggc aag gcc gac aag tac ctc aag tcg ctg ccg Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro 65 70 75 80			240
65	aag ctg gat ggc tcc aag gtg gag tcg cgg ttc tcg gcc aaa gag cag Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln 85 90 95			288
70	gcg cgg cgc gac gcc atg acg cgc gac tac ggc gcc ttt cgc gag gag Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu 100 105 110			336
	ctc gtc gcc gag ggg tac ttt gac ccg tcg atc ccg cac atg att tac Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr 115 120 125			384
	cgc gtc gtg gag atc gtg ggc ctc ttc ggc ctc tcg ttc tgg ctc atg			432

19

	Arg	Val	Val	Glu	Ile	Val	Ala	Leu	Phe	Ala	Leu	Ser	Phe	Trp	Leu	Met	
	130						135					140					
5	tcc	aag	gcc	tcg	ccc	acc	tcg	ctc	gtg	ctg	ggc	gtg	gtg	atg	aac	ggc	480
	Ser	Lys	Ala	Ser	Pro	Thr	Ser	Leu	Val	Leu	Gly	Val	Val	Met	Asn	Gly	
	145					150					155					160	
10	att	gcg	cag	ggc	cgc	tgc	ggc	tgg	gtc	atg	cac	gag	atg	ggc	cac	ggg	528
	Ile	Ala	Gln	Gly	Arg	Cys	Gly	Trp	Val	Met	His	Glu	Met	Gly	His	Gly	
					165					170					175		
15	tcg	ttc	acg	ggc	gtc	atc	tgg	ctc	gac	gac	cgg	atg	tgc	gag	ttc	ttc	576
	Ser	Phe	Thr	Gly	Val	Ile	Trp	Leu	Asp	Asp	Arg	Met	Cys	Glu	Phe	Phe	
				180					185					190			
20	tac	ggc	gtc	ggc	tgc	ggc	atg	agc	ggg	cac	tac	tgg	aag	aac	cag	cac	624
	Tyr	Gly	Val	Gly	Cys	Gly	Met	Ser	Gly	His	Tyr	Trp	Lys	Asn	Gln	His	
			195					200					205				
25	agc	aag	cac	cac	gcc	gcg	ccc	aac	cgc	ctc	gag	cac	gat	gtc	gat	ctc	672
	Ser	Lys	His	His	Ala	Ala	Pro	Asn	Arg	Leu	Glu	His	Asp	Val	Asp	Leu	
		210					215					220					
30	aac	acg	ctg	ccc	ctg	gtc	gcc	ttt	aac	gag	cgc	gtc	gtg	cgc	aag	gtc	720
	Asn	Thr	Leu	Pro	Leu	Val	Ala	Phe	Asn	Glu	Arg	Val	Val	Arg	Lys	Val	
	225					230					235					240	
35	aag	ccg	gga	tcg	ctg	ctg	gcg	ctc	tgg	ctg	cgc	gtg	cag	gcg	tac	ctc	768
	Lys	Pro	Gly	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	Trp	Leu	Arg	Val	Gln	Ala	Tyr	Leu	
					245					250					255		
40	ttt	gcg	ccc	gtc	tcg	tgc	ctg	ctc	atc	ggc	ctt	ggc	tgg	acg	ctc	tac	816
	Phe	Ala	Pro	Val	Ser	Cys	Leu	Leu	Ile	Gly	Leu	Gly	Trp	Thr	Leu	Tyr	
				260					265					270			
45	ctg	cac	ccg	cgc	tac	atg	ctg	cgc	acc	aag	cgg	cac	atg	gag	ttc	gtc	864
	Leu	His	Pro	Arg	Tyr	Met	Leu	Arg	Thr	Lys	Arg	His	Met	Glu	Phe	Val	
			275				280						285				
50	tgg	atc	ttc	gcg	cgc	tac	att	ggc	tgg	ttc	tcg	ctc	atg	ggc	gct	ctc	912
	Trp	Ile	Phe	Ala	Arg	Tyr	Ile	Gly	Trp	Phe	Ser	Leu	Met	Gly	Ala	Leu	
		290					295					300					
55	ggc	tac	tcg	ccg	ggc	acc	tcg	gtc	ggg	atg	tac	ctg	tgc	tcg	ttc	ggc	960
	Gly	Tyr	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Val	Gly	Met	Tyr	Leu	Cys	Ser	Phe	Gly	
	305					310				315						320	
60	ctc	ggc	tgc	att	tac	att	ttc	ctg	cag	ttc	gcc	gtc	agc	cac	acg	cac	1008
	Leu	Gly	Cys	Ile	Tyr	Ile	Phe	Leu	Gln	Phe	Ala	Val	Ser	His	Thr	His	
					325					330					335		
65	ctg	ccg	gtg	acc	aac	ccg	gag	gac	cag	ctg	cac	tgg	ctc	gag	tac	gcg	1056
	Leu	Pro	Val	Thr	Asn	Pro	Glu	Asp	Gln	Leu	His	Trp	Leu	Glu	Tyr	Ala	
				340				345						350			
70	gcc	gac	cac	acg	gtg	aac	att	agc	acc	aag	tcc	tgg	ctc	gtc	acg	tgg	1104
	Ala	Asp	His	Thr	Val	Asn	Ile	Ser	Thr	Lys	Ser	Trp	Leu	Val	Thr	Trp	
			355					360					365				
75	tgg	atg	tcg	aac	ctg	aac	ttt	cag	atc	gag	cac	cac	ctc	ttc	ccc	acg	1152
	Trp	Met	Ser	Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Ile	Glu	His	His	Leu	Phe	Pro	Thr	
		370					375					380					
80	gcg	ccg	cag	ttc	cgc	ttc	aag	gaa	atc	agt	cct	cgc	gtc	gag	gcc	ctc	1200
	Ala	Pro	Gln	Phe	Arg	Phe	Lys	Glu	Ile	Ser	Pro	Arg	Val	Glu	Ala	Leu	
	385					390					395					400	
85	ttc	aag	cgc	cac	aac	ctc	ccg	tac	tac	gac	ctg	ccc	tac	acg	agc	gcg	1248
	Phe	Lys	Arg	His	Asn	Leu	Pro	Tyr	Tyr	Asp	Leu	Pro	Tyr	Thr	Ser	Ala	
					405					410					415		
90	gtc	tcg	acc	acc	ttt	gcc	aat	ctt	tat	tcc	gtc	ggc	cac	tcg	gtc	ggc	1296
	Val	Ser	Thr	Thr	Phe	Ala	Asn	Leu	Tyr	Ser	Val	Gly	His	Ser	Val	Gly	

20

420 425 430
 gcc gac acc aag aag cag gac tga 1320
 Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp
 435
 5
 <210> 12
 10 <211> 439
 <212> PRT
 15 <213> Thraustrochytrium
 <400> 12
 20 Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala
 1 5 10 15
 25 Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu
 20 25 30
 Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe
 35 40 45
 Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu
 50 55 60
 35 Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro
 65 70 75 80
 40 Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln
 85 90 95
 45 Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu
 100 105 110
 50 Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr
 115 120 125
 Arg Val Val Glu Ile Val Ala Leu Phe Ala Leu Ser Phe Trp Leu Met
 130 135 140
 55 Ser Lys Ala Ser Pro Thr Ser Leu Val Leu Gly Val Val Met Asn Gly
 145 150 155 160
 60 Ile Ala Gln Gly Arg Cys Gly Trp Val Met His Glu Met Gly His Gly
 165 170 175
 65 Ser Phe Thr Gly Val Ile Trp Leu Asp Asp Arg Met Cys Glu Phe Phe
 180 185 190
 Tyr Gly Val Gly Cys Gly Met Ser Gly His Tyr Trp Lys Asn Gln His
 195 200 205
 70 Ser Lys His His Ala Ala Pro Asn Arg Leu Glu His Asp Val Asp Leu
 210 215 220

21

5 Asn Thr Leu Pro Leu Val Ala Phe Asn Glu Arg Val Val Arg Lys Val
225 230 235 240

10 Lys Pro Gly Ser Leu Leu Ala Leu Trp Leu Arg Val Gln Ala Tyr Leu
245 250 255

15 Phe Ala Pro Val Ser Cys Leu Leu Ile Gly Leu Gly Trp Thr Leu Tyr
260 265 270

20 Leu His Pro Arg Tyr Met Leu Arg Thr Lys Arg His Met Glu Phe Val
275 280 285

25 Trp Ile Phe Ala Arg Tyr Ile Gly Trp Phe Ser Leu Met Gly Ala Leu
290 295 300

30 Gly Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Val Gly Met Tyr Leu Cys Ser Phe Gly
305 310 315 320

35 Leu Gly Cys Ile Tyr Ile Phe Leu Gln Phe Ala Val Ser His Thr His
325 330 335

40 Leu Pro Val Thr Asn Pro Glu Asp Gln Leu His Trp Leu Glu Tyr Ala
340 345 350

45 Ala Asp His Thr Val Asn Ile Ser Thr Lys Ser Trp Leu Val Thr Trp
355 360 365

50 Trp Met Ser Asn Leu Asn Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr
370 375 380

55 Ala Pro Gln Phe Arg Phe Lys Glu Ile Ser Pro Arg Val Glu Ala Leu
385 390 395 400

60 Phe Lys Arg His Asn Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Pro Tyr Thr Ser Ala
405 410 415

65 Val Ser Thr Thr Phe Ala Asn Leu Tyr Ser Val Gly His Ser Val Gly
420 425 430

70 Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp
435

<210> 13

<211> 1341

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

22

<222> (1)..(1341)

<223> Delta-5-Desaturase

5

<400> 13

10	atg gga acg gac caa gga aaa acc ttc acc tgg gaa gag ctg gcg gcc	48
	Met Gly Thr Asp Gln Gly Lys Thr Phe Thr Trp Glu Glu Leu Ala Ala	
	1 5 10 15	
15	cat aac acc aag gac gac cta ctc ttg gcc atc cgc ggc agg gtg tac	96
	His Asn Thr Lys Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ile Arg Gly Arg Val Tyr	
	20 25 30	
20	gat gtc aca aag ttc ttg agc cgc cat cct ggt gga gtg gac act ctc	144
	Asp Val Thr Lys Phe Leu Ser Arg His Pro Gly Gly Val Asp Thr Leu	
	35 40 45	
25	ctg ctc gga gct ggc cga gat gtt act ccg gtc ttt gag atg tat cac	192
	Leu Leu Gly Ala Gly Arg Asp Val Thr Pro Val Phe Glu Met Tyr His	
	50 55 60	
30	gcg ttt ggg gct gca gat gcc att atg aag aag tac tat gtc ggt aca	240
	Ala Phe Gly Ala Ala Asp Ala Ile Met Lys Lys Tyr Tyr Val Gly Thr	
	65 70 75 80	
35	ctg gtc tcg aat gag ctg ccc atc ttc ccg gag cca acg gtg ttc cac	288
	Leu Val Ser Asn Glu Leu Pro Ile Phe Pro Glu Pro Thr Val Phe His	
	85 90 95	
40	aaa acc atc aag acg aga gtc gag ggc tac ttt acg gat cgg aac att	336
	Lys Thr Ile Lys Thr Arg Val Glu Gly Tyr Phe Thr Asp Arg Asn Ile	
	100 105 110	
45	gat ccc aag aat aga cca gag atc tgg gga cga tac gct ctt atc ttt	384
	Asp Pro Lys Asn Arg Pro Glu Ile Trp Gly Arg Tyr Ala Leu Ile Phe	
	115 120 125	
50	gga tcc ttg atc gct tcc tac tac gcg cag ctc ttt gtg cct ttc gtt	432
	Gly Ser Leu Ile Ala Ser Tyr Tyr Ala Gln Leu Phe Val Pro Phe Val	
	130 135 140	
55	gtc gaa cgc aca tgg ctt cag gtg gtg ttt gca atc atc atg gga ttt	480
	Val Glu Arg Thr Trp Leu Gln Val Val Phe Ala Ile Ile Met Gly Phe	
	145 150 155 160	
60	gcg tgc gca caa gtc gga ctc aac cct ctt cat gat gcg tct cac ttt	528
	Ala Cys Ala Gln Val Gly Leu Asn Pro Leu His Asp Ala Ser His Phe	
	165 170 175	
65	tca gtg acc cac aac ccc act gtc tgg aag att ctg gga gcc acg cac	576
	Ser Val Thr His Asn Pro Thr Val Trp Lys Ile Leu Gly Ala Thr His	
	180 185 190	
70	gac ttt ttc aac gga gca tcg tac ctg gtg tgg atg tac caa cat atg	624
	Asp Phe Phe Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Val Trp Met Tyr Gln His Met	
	195 200 205	
75	ctc ggc cat cac ccc tac acc aac att gct gga gca gat ccc gac gtg	672
	Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Ile Ala Gly Ala Asp Pro Asp Val	
	210 215 220	
80	tcg acg tct gag ccc gat gtt cgt cgt atc aag ccc aac caa aag tgg	720
	Ser Thr Ser Glu Pro Asp Val Arg Arg Ile Lys Pro Asn Gln Lys Trp	
	225 230 235 240	
85	ttt gtc aac cac atc aac cag cac atg ttt gtt cct ttc ctg tac gga	768
	Phe Val Asn His Ile Asn Gln His Met Phe Val Pro Phe Leu Tyr Gly	
	245 250 255	
90	ctg ctg gcg ttc aag gtg cgc att cag gac atc aac att ttg tac ttt	816
	Leu Leu Ala Phe Lys Val Arg Ile Gln Asp Ile Asn Ile Leu Tyr Phe	

23

	260	265	270	
5	gtc aag acc aat gac gct att cgt Val Lys Thr Asn Asp Ala Ile Arg	gtc aat ccc atc tcg Val Asn Pro Ile Ser	aca tgg cac Thr Trp His	864
	275	280	285	
10	act gtg atg ttc tgg ggc ggc aag Thr Val Met Phe Trp Gly Gly Lys	gct ttc ttt gtc tgg tat cgc ctg Ala Phe Phe Val Trp Tyr Arg Leu		912
	290	295	300	
15	att gtt ccc ctg cag tat ctg ccc ctg ggc aag gtg ctg ctc ttg ttc Ile Val Pro Leu Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Lys Val Leu Leu Leu Phe			960
	305	310	315	320
20	acg gtc gcg gac atg gtg tgc tct tac tgg ctg gcg ctg acc ttc cag Thr Val Ala Asp Met Val Ser Ser Tyr Trp Leu Ala Leu Thr Phe Gln			1008
	325	330	335	
25	gcg aac cac gtt gtt gag gaa gtt cag tgg ccg ttg cct gac gag aac Ala Asn His Val Val Glu Glu Val Gln Trp Pro Leu Pro Asp Glu Asn			1056
	340	345	350	
30	ggg atc atc caa aag gac tgg gca gct atg cag gtc gag act acg cag Gly Ile Ile Gln Lys Asp Trp Ala Ala Met Gln Val Glu Thr Thr Gln			1104
	355	360	365	
35	gat tac gca cac gat tgc cac ctc tgg acc agc atc act ggc agc ttg Asp Tyr Ala His Asp Ser His Leu Trp Thr Ser Ile Thr Gly Ser Leu			1152
	370	375	380	
40	aac tac cag gct gtg cac cat ctg ttc ccc aac gtg tgc cag cac cat Asn Tyr Gln Ala Val His His Leu Phe Pro Asn Val Ser Gln His His			1200
	385	390	395	400
45	tat ccc gat att ctg gcc atc atc aag aac acc tgc agc gag tac aag Tyr Pro Asp Ile Leu Ala Ile Ile Lys Asn Thr Cys Ser Glu Tyr Lys			1248
	405	410	415	
50	gtt cca tac ctt gtc aag gat acg ttt tgg caa gca ttt gct tca cat Val Pro Tyr Leu Val Lys Asp Thr Phe Trp Gln Ala Phe Ala Ser His			1296
	420	425	430	
55	ttg gag cac ttg cgt gtt ctt gga ctc cgt ccc aag gaa gag tag Leu Glu His Leu Arg Val Leu Gly Leu Arg Pro Lys Glu Glu			1341
	435	440	445	
60	<210> 14			
65	<211> 446			
70	<212> PRT			
	<213> Mortierella alpina			
	<400> 14			
60	Met Gly Thr Asp Gln Gly Lys Thr Phe Thr Trp Glu Glu Leu Ala Ala			
	1	5	10	15
65	His Asn Thr Lys Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ile Arg Gly Arg Val Tyr			
	20	25	30	
70	Asp Val Thr Lys Phe Leu Ser Arg His Pro Gly Gly Val Asp Thr Leu			
	35	40	45	
	Leu Leu Gly Ala Gly Arg Asp Val Thr Pro Val Phe Glu Met Tyr His			
	50	55	60	

5 Ala Phe Gly Ala Ala Asp Ala Ile Met Lys Lys Tyr Tyr Val Gly Thr
 65 70 75 80

 Leu Val Ser Asn Glu Leu Pro Ile Phe Pro Glu Pro Thr Val Phe His
 85 90 95

 10 Lys Thr Ile Lys Thr Arg Val Glu Gly Tyr Phe Thr Asp Arg Asn Ile
 100 105 110

 15 Asp Pro Lys Asn Arg Pro Glu Ile Trp Gly Arg Tyr Ala Leu Ile Phe
 115 120 125

 20 Gly Ser Leu Ile Ala Ser Tyr Tyr Ala Gln Leu Phe Val Pro Phe Val
 130 135 140

 25 Val Glu Arg Thr Trp Leu Gln Val Val Phe Ala Ile Ile Met Gly Phe
 145 150 155 160

 Ala Cys Ala Gln Val Gly Leu Asn Pro Leu His Asp Ala Ser His Phe
 165 170 175

 30 Ser Val Thr His Asn Pro Thr Val Trp Lys Ile Leu Gly Ala Thr His
 180 185 190

 35 Asp Phe Phe Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Val Trp Met Tyr Gln His Met
 195 200 205

 40 Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Ile Ala Gly Ala Asp Pro Asp Val
 210 215 220

 45 Ser Thr Ser Glu Pro Asp Val Arg Arg Ile Lys Pro Asn Gln Lys Trp
 225 230 235 240

 Phe Val Asn His Ile Asn Gln His Met Phe Val Pro Phe Leu Tyr Gly
 245 250 255

 50 Leu Leu Ala Phe Lys Val Arg Ile Gln Asp Ile Asn Ile Leu Tyr Phe
 260 265 270

 55 Val Lys Thr Asn Asp Ala Ile Arg Val Asn Pro Ile Ser Thr Trp His
 275 280 285

 60 Thr Val Met Phe Trp Gly Gly Lys Ala Phe Phe Val Trp Tyr Arg Leu
 290 295 300

 65 Ile Val Pro Leu Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Lys Val Leu Leu Leu Phe
 305 310 315 320

 Thr Val Ala Asp Met Val Ser Ser Tyr Trp Leu Ala Leu Thr Phe Gln
 325 330 335

 70 Ala Asn His Val Val Glu Glu Val Gln Trp Pro Leu Pro Asp Glu Asn
 340 345 350

25

Gly Ile Ile Gln Lys Asp Trp Ala Ala Met Gln Val Glu Thr Thr Gln
 355 360 365
 5 Asp Tyr Ala His Asp Ser His Leu Trp Thr Ser Ile Thr Gly Ser Leu
 370 375 380
 10 Asn Tyr Gln Ala Val His His Leu Phe Pro Asn Val Ser Gln His His
 385 390 395 400
 15 Tyr Pro Asp Ile Leu Ala Ile Ile Lys Asn Thr Cys Ser Glu Tyr Lys
 405 410 415
 20 Val Pro Tyr Leu Val Lys Asp Thr Phe Trp Gln Ala Phe Ala Ser His
 420 425 430
 25 Leu Glu His Leu Arg Val Leu Gly Leu Arg Pro Lys Glu Glu
 435 440 445
 30 <210> 15
 <211> 1344
 <212> DNA
 <213> Caenorhabditis elegans
 35 <220>
 <221> CDS
 40 <222> (1)..(1344)
 <223> Delta-5-Desaturase
 45 <400> 15
 atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat 48
 Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp
 1 5 10 15
 50 gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt 96
 Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly
 20 25 30
 55 ggt agt gca att act acc tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc 144
 Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe
 35 40 45
 60 cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa 192
 His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu
 50 55 60
 65 ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag 240
 Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys
 65 70 75 80
 70 gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat 288
 Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn
 85 90 95
 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta 336
 Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu
 100 105 110

26

5	cgt Arg	atg Met	cga Arg 115	gtt Val	cgt Arg	gca Ala	gaa Glu	gga Gly 120	ctt Leu	atg Met	gat Asp	gga Gly	tct Ser 125	cct Pro	ttg Leu	ttc Phe	384
	tac Tyr	att Ile 130	aga Arg	aaa Lys	att Ile	ctt Leu	gaa Glu 135	aca Thr	atc Ile	ttc Phe	aca Thr 140	att Ile	ctt Leu	ttt Phe	gca Ala	ttc Phe	432
10	tac Tyr 145	ctt Leu	caa Gln	tac Tyr	cac His	aca Thr 150	tat Tyr	tat Tyr	ctt Leu	cca Pro	tca Ser 155	gct Ala	att Ile	cta Leu	atg Met	gga Gly 160	480
15	gtt Val	gcg Ala	tgg Trp	caa Gln 165	caa Gln 165	ttg Leu	gga Gly	tgg Trp	tta Leu 170	atc Ile 170	cat His	gaa Glu	ttc Phe	gca Ala	cat His 175	cat His	528
20	cag Gln	ttg Leu	ttc Phe	aaa Lys 180	aac Asn	aga Arg	tac Tyr	tac Tyr	aat Asn 185	gat Asp	ttg Leu	gcc Ala	agc Ser 190	tat Tyr	ttc Phe	gtt Val	576
25	gga Gly	aac Asn 195	ttt Phe	tta Leu	caa Gln	gga Gly	ttc Phe	tca Ser 200	tct Ser	ggt Gly	ggt Gly	tgg Trp	aaa Lys 205	gag Glu	cag Gln	cac His	624
	aat Asn 210	gtg Val	cat His	cac His	gca Ala	gcc Ala	aca Thr 215	aat Asn	gtt Val	gtt Val	gga Gly	cga Arg 220	gac Asp	gga Gly	gat Asp	ctt Leu	672
30	gat Asp 225	tta Leu	gtc Val	cca Pro	ttc Phe	tat Tyr 230	gct Ala	aca Thr	gtg Val	gca Ala	gaa Glu 235	cat His	ctc Leu	aac Asn	aat Asn	tat Tyr 240	720
35	tct Ser	cag Gln	gat Asp	tca Ser	tgg Trp 245	gtt Val	atg Met	act Thr	cta Leu	ttc Phe 250	aga Arg	tgg Trp	caa Gln	cat His	gtt Val 255	cat His	768
40	tgg Trp	aca Thr	ttc Phe	atg Met 260	tta Leu	cca Pro	ttc Phe	ctc Leu	cgt Arg 265	ctc Leu	tcg Ser	tgg Trp	ctt Leu 270	ctt Leu	cag Gln	tca Ser	816
45	atc Ile	att Ile	ttt Phe 275	gtt Val	agt Ser	cag Gln	atg Met	cca Pro 280	act Thr	cat His	tat Tyr	tat Tyr	gac Asp 285	tat Tyr	tac Tyr	aga Arg	864
	aat Asn 290	act Thr	gcg Ala	att Ile	tat Tyr	gaa Glu	cag Gln 295	gtt Val	ggt Gly	ctc Leu	tct Ser	ttg Leu 300	cac His	tgg Trp	gct Ala	tgg Trp	912
50	tca Ser 305	ttg Leu	ggt Gly	caa Gln	ttg Leu	tat Tyr 310	ttc Phe	cta Leu	ccc Pro	gat Asp	tgg Trp 315	tca Ser	act Thr	aga Arg	ata Ile	atg Met 320	960
55	ttc Phe	ttc Phe	ctt Leu	gtt Val	tct Ser 325	cat His	ctt Leu	gtt Val	gga Gly	ggt Gly 330	ttc Phe	ctg Leu	ctc Leu	tct Ser	cat His 335	gta Val	1008
60	gtt Val	act Thr	ttc Phe	aat Asn 340	cat His	tat Tyr	tca Ser	gtg Val	gag Glu	aag Lys	ttt Phe	gca Ala	ttg Leu 350	agc Ser	tcg Ser	aac Asn	1056
65	atc Ile	atg Met	tca Ser 355	aat Asn	tac Tyr	gct Ala	tgt Cys	ctt Leu 360	caa Gln	atc Ile	atg Met	acc Thr	aca Thr 365	aga Arg	aat Asn	atg Met	1104
	aga Arg 370	cct Pro	gga Gly	aga Arg	ttc Phe	att Ile	gac Asp 375	tgg Trp	ctt Leu	tgg Trp	gga Gly	ggt Gly 380	ctt Leu	aac Asn	tat Tyr	cag Gln	1152
70	att Ile 385	gag Glu	cac His	cat His	ctt Leu	ttc Phe 390	cca Pro	acg Thr	atg Met	cca Pro	cga Arg 395	cac His	aac Asn	ttg Leu	aac Asn	act Thr 400	1200

27

	gtt atg cca ctt gtt aag gag ttt gca gca gca aat ggt tta cca tac	1248
	Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr	
	405 410 415	
5	atg gtc gac gat tat ttc aca gga ttc tgg ctt gaa att gag caa ttc	1296
	Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe	
	420 425 430	
10	cga aat att gca aat gtt gct gct aaa ttg act aaa aag att gcc tag	1344
	Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala	
	435 440 445	
15	<210> 16	
	<211> 447	
	<212> PRT	
20	<213> Caenorhabditis elegans	
25	<400> 16	
	Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp	
	1 5 10 15	
30	Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly	
	20 25 30	
35	Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe	
	35 40 45	
40	His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu	
	50 55 60	
	Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys	
	65 70 75 80	
45	Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn	
	85 90 95	
50	Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu	
	100 105 110	
55	Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe	
	115 120 125	
60	Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe	
	130 135 140	
	Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly	
	145 150 155 160	
65	Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His	
	165 170 175	
70	Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val	
	180 185 190	

28

[illegible]

<220>

5 <221> CDS

<222> (42)..(1388)

10 <223> Delta-6-Desaturase

<400> 17

15 tatctgccta ccctcccaaa gagagtagtc atttttcatc a atg gct gct caa atc 56
Met Ala Ala Gln Ile
1 5

20 aag aaa tac att acc tca gat gaa ctc aag aac cac gat aaa ccc gga 104
Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn His Asp Lys Pro Gly
10 15 20

25 gat cta tgg atc tcg att caa ggg aaa gcc tat gat gtt tcg gat tgg 152
Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr Asp Val Ser Asp Trp
25 30 35

30 gtg aaa gac cat cca ggt ggc agc ttt ccc ttg aag agt ctt gct ggt 200
Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu Lys Ser Leu Ala Gly
40 45 50

35 caa gag gta act gat gca ttt gtt gca ttc cat cct gcc tct aca tgg 248
Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His Pro Ala Ser Thr Trp
55 60 65

40 aag aat ctt gat aag ttt ttc act ggg tat tat ctt aaa gat tac tct 296
Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys Asp Tyr Ser
70 75 80 85

45 gtt tct gag gtt tct aaa gat tat agg aag ctt gtg ttt gag ttt tct 344
Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu Val Phe Glu Phe Ser
90 95 100

50 aaa atg ggt ttg tat gac aaa aaa ggt cat att atg ttt gca act ttg 392
Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile Met Phe Ala Thr Leu
105 110 115

55 tgc ttt ata gca atg ctg ttt gct atg agt gtt tat ggg gtt ttg ttt 440
Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val Tyr Gly Val Leu Phe
120 125 130

60 tgt gag ggt gtt ttg gta cat ttg ttt tct ggg tgt ttg atg ggg ttt 488
Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly Cys Leu Met Gly Phe
135 140 145

65 ctt tgg att cag agt ggt tgg att gga cat gat gct ggg cat tat atg 536
Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp Ala Gly His Tyr Met
150 155 160 165

70 gta gtg tct gat tca agg ctt aat aag ttt atg ggt att ttt gct gca 584
Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met Gly Ile Phe Ala Ala
170 175 180

aat tgt ctt tca gga ata agt att ggt tgg tgg aaa tgg aac cat aat 632
Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn
185 190 195

65 gca cat cac att gcc tgt aat agc ctt gaa tat gac cct gat tta caa 680
Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr Asp Pro Asp Leu Gln
200 205 210

70 tat ata cca ttc ctt gtt gtg tct tcc aag ttt ttt ggt tca ctc acc 728
Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe Phe Gly Ser Leu Thr
215 220 225

30

	tct cat ttc tat gag aaa agg ttg act ttt gac tct tta tca aga ttc	776
	Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp Ser Leu Ser Arg Phe	
	230 235 240 245	
5	ttt gta agt tat caa cat tgg aca ttt tac cct att atg tgt gct gct	824
	Phe Val Ser Tyr 250 His Trp Thr Phe Tyr Pro Ile Met Cys Ala Ala	
	255 260	
10	agg ctc aat atg tat gta caa tct ctc ata atg ttg ttg acc aag aga	872
	Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met Leu Leu Thr Lys Arg	
	265 270 275	
15	aat gtg tcc tat cga gct cag gaa ctc ttg gga tgc cta gtg ttc tcg	920
	Asn Val Ser Tyr Arg Ala Gln Glu Leu Leu Gly Cys Leu Val Phe Ser	
	280 285 290	
20	att tgg tac ccg ttg ctt gtt tct tgt ttg cct aat tgg ggt gaa aga	968
	Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg	
	295 300 305	
25	att atg ttt gtt att gca agt tta tca gtg act gga atg caa caa gtt	1016
	Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr Gly Met Gln Gln Val	
	310 315 320 325	
30	cag ttc tcc ttg aac cac ttc tct tca agt gtt tat gtt gga aag cct	1064
	Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Val Tyr Val Gly Lys Pro	
	330 335 340	
35	aaa ggg aat aat tgg ttt gag aaa caa acg gat ggg aca ctt gac att	1112
	Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp Gly Thr Leu Asp Ile	
	345 350 355	
40	tct tgt cct cct tgg atg gat tgg ttt cat ggt gga ttg caa ttc caa	1160
	Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln	
	360 365 370	
45	att gag cat cat ttg ttt ccc aag atg cct aga tgc aac ctt agg aaa	1208
	Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg Cys Asn Leu Arg Lys	
	375 380 385	
50	atc tcg ccc tac gtg atc gag tta tgc aag aaa cat aat ttg cct tac	1256
	Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr	
	390 395 400 405	
55	aat tat gca tct ttc tcc aag gcc aat gaa atg aca ctc aga aca ttg	1304
	Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met Thr Leu Arg Thr Leu	
	410 415 420	
60	agg aac aca gca ttg cag gct agg gat ata acc aag ccg ctc ccg aag	1352
	Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr Lys Pro Leu Pro Lys	
	425 430 435	
65	aat ttg gta tgg gaa gct ctt cac act cat ggt taa aattaccctt	1398
	Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly	
	440 445	
70	agttcatgta ataatttgag attatgtatc tcctatgttt gtgtcttgtc ttggttctac	1458
	ttgttggagt cattgcaact tgtcttttat gggtttattag atgtttttta atatatttta	1518
	gaggtttttgc tttcatctcc attattgatg aataaggagt tgcattattgt caattgttgt	1578
	gctcaatatc tgatattttg gaatgtactt tgtaccactg tgtttttcagt tgaagctcat	1638
	gtgtacttct atagactttg tttaaatggg tatgtcatgt tatttt	1683
	<210> 18	
	<211> 448	
	<212> PRT	

31

<213> Borago officinalis

5 <400> 18

Met Ala Ala Gln Ile Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn
1 5 10 15

10

His Asp Lys Pro Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr
20 25 30

15

Asp Val Ser Asp Trp Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu
35 40 45

20

Lys Ser Leu Ala Gly Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His
50 55 60

25

Pro Ala Ser Thr Trp Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr
65 70 75 80

Leu Lys Asp Tyr Ser Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu
85 90 95

30

Val Phe Glu Phe Ser Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile
100 105 110

35

Met Phe Ala Thr Leu Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val
115 120 125

40

Tyr Gly Val Leu Phe Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly
130 135 140

45

Cys Leu Met Gly Phe Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp
145 150 155 160

Ala Gly His Tyr Met Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met
165 170 175

50

Gly Ile Phe Ala Ala Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp
180 185 190

55

Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr
195 200 205

60

Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe
210 215 220

65

Phe Gly Ser Leu Thr Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp
225 230 235 240

Ser Leu Ser Arg Phe Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro
245 250 255

70

Ile Met Cys Ala Ala Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met
260 265 270

32

Leu Leu Thr Lys Arg Asn Val Ser Tyr Arg Ala Gln Glu Leu Leu Gly
 275 280 285
 5 Cys Leu Val Phe Ser Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro
 290 295 300
 10 Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr
 305 310 315 320
 15 Gly Met Gln Gln Val Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Ser Val
 325 330 335
 20 Tyr Val Gly Lys Pro Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp
 340 345 350
 25 Gly Thr Leu Asp Ile Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly
 355 360 365
 Gly Leu Gln Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg
 370 375 380
 30 Cys Asn Leu Arg Lys Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys
 385 390 395 400
 35 His Asn Leu Pro Tyr Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met
 405 410 415
 40 Thr Leu Arg Thr Leu Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr
 420 425 430
 Lys Pro Leu Pro Lys Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly
 435 440 445
 45 <210> 19
 <211> 1563
 50 <212> DNA
 <213> Ceratodon purpureus
 55 <220>
 <221> CDS
 60 <222> (1)..(1563)
 <223> Delta-6-Desaturase
 65 <400> 19
 atg gtg tcc cag ggc ggc ggt ctc tcg cag ggt tcc att gaa gaa aac 48
 Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn
 1 5 10 15
 70 att gac gtt gag cac ttg gca acg atg ccc ctc gtc agt gac ttc cta 96
 Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu
 20 25 30

33

5	aat gtc ctg gga acg act ttg ggc cag tgg agt ctt tcc act aca ttc Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe 35 40 45	144
10	gct ttc aag agg ctc acg act aag aaa cac agt tcg gac atc tcg gtg Ala Phe Lys Arg Leu Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val 50 55 60	192
15	gag gca caa aaa gaa tcg gtt gcg cgg ggg cca gtt gag aat att tct Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser 65 70 75 80	240
20	caa tcg gtt gcg cag ccc atc agg cgg agg tgg gtg cag gat aaa aag Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys 85 90 95	288
25	ccg gtt act tac agc ctg aag gat gta gct tcg cac gat atg ccc cag Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln 100 105 110	336
30	gac tgc tgg att ata atc aaa gag aag gtg tat gat gtg agc acc ttc Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe 115 120 125	384
35	gct gag cag cac cct gga ggc acg gtt atc aac acc tac ttc gga cga Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg 130 135 140	432
40	gac gcc aca gat gtt ttc tct act ttc cac gca tcc acc tca tgg aag Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys 145 150 155 160	480
45	att ctt cag aat ttc tac atc ggg aac ctt gtt agg gag gag ccg act Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr 165 170 175	528
50	ttg gag ctg ctg aag gag tac aga gag ttg aga gcc ctt ttc ttg aga Leu Glu Leu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg 180 185 190	576
55	gaa cag ctt ttc aag agt tcc aaa tcc tac tac ctt ttc aag act ctc Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu 195 200 205	624
60	ata aat gtt tcc att gtt gcc aca agc att gcg ata atc agt ctg tac Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr 210 215 220	672
65	aag tct tac cgg gcg gtt ctg tta tca gcc agt ttg atg ggc ttg ttt Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe 225 230 235 240	720
70	att caa cag tgc gga tgg ttg tct cac gat ttt cta cac cat cag gta Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val 245 250 255	768
75	ttt gag aca cgc tgg ctc aat gac gtt gtt ggc tat gtg gtc ggc aac Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn 260 265 270	816
80	gtt gtt ctg gga ttc agt gtc tcg tgg tgg aag acc aag cac aac ctg Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu 275 280 285	864
85	cat cat gct gct ccg aat gaa tgc gac caa aag tac aca ccg att gat His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp 290 295 300	912
90	gag gat att gat act ctc ccc atc att gct tgg agt aaa gat ctc ttg Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu 305 310 315 320	960

34

	gcc act gtt gag agc aag acc atg ttg cga gtt ctt cag tac cag cac	1008
	Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His	
	325 330 335	
5	cta ttc ttt ttg gtt ctt ttg acg ttt gcc cgg gcg agt tgg cta ttt	1056
	Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe	
	340 345 350	
10	tgg agc gcg gcc ttc act ctc agg ccc gag ttg acc ctt ggc gag aag	1104
	Trp Ser 355 Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr 365	
	360 365	
15	ctt ttg gag agg gga acg atg gct ttg cac tac att tgg ttt aat agt	1152
	Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser	
	370 375 380	
20	gtt gcg ttt tat ctg ctc ccc gga tgg aaa cca gtt gta tgg atg gtg	1200
	Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val	
	385 390 395 400	
	gtc agc gag ctc atg tct ggt ttc ctg ctg gga tac gta ttt gta ctc	1248
	Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu	
	405 410 415	
25	agt cac aat gga atg gag gtg tac aat acg tca aag gac ttc gtg aat	1296
	Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn	
	420 425 430	
30	gcc cag att gca tcg act cgc gac atc aaa gca ggg gtg ttt aat gat	1344
	Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp	
	435 440 445	
35	tgg ttc acc gga ggt ctc aac aga cag att gag cat cat cta ttt cca	1392
	Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro	
	450 455 460	
40	acg atg ccc agg cac aac ctt aat aaa att tct cct cac gtg gag act	1440
	Thr Met Pro Arg His Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr	
	465 470 475 480	
	ttg tgc aag aag cat gga ctg gtc tac gaa gac gtg agc atg gct tcg	1488
	Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser	
	485 490 495	
45	ggc act tac cgg gtt ttg aaa aca ctt aag gac gtt gcc gat gct gct	1536
	Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala	
	500 505 510	
50	tca cac cag cag ctt gct gcg agt tga	1563
	Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser	
	515 520	
55	<210> 20	
	<211> 520	
	<212> PRT	
60	<213> Ceratodon purpureus	
65	<400> 20	
	Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn	
	1 5 10 15	
70	Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu	
	20 25 30	

35

	Asn	Val	Leu	Gly	Thr	Thr	Leu	Gly	Gln	Trp	Ser	Leu	Ser	Thr	Thr	Phe
	35						40					45				
5	Ala	Phe	Lys	Arg	Leu	Thr	Thr	Lys	Lys	His	Ser	Ser	Asp	Ile	Ser	Val
	50						55					60				
10	Glu	Ala	Gln	Lys	Glu	Ser	Val	Ala	Arg	Gly	Pro	Val	Glu	Asn	Ile	Ser
	65					70					75					80
15	Gln	Ser	Val	Ala	Gln	Pro	Ile	Arg	Arg	Arg	Trp	Val	Gln	Asp	Lys	Lys
					85					90					95	
20	Pro	Val	Thr	Tyr	Ser	Leu	Lys	Asp	Val	Ala	Ser	His	Asp	Met	Pro	Gln
				100					105					110		
25	Asp	Cys	Trp	Ile	Ile	Ile	Lys	Glu	Lys	Val	Tyr	Asp	Val	Ser	Thr	Phe
			115					120					125			
30	Ala	Glu	Gln	His	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Ile	Asn	Thr	Tyr	Phe	Gly	Arg
							135					140				
35	Asp	Ala	Thr	Asp	Val	Phe	Ser	Thr	Phe	His	Ala	Ser	Thr	Ser	Trp	Lys
	145					150					155					160
40	Ile	Leu	Gln	Asn	Phe	Tyr	Ile	Gly	Asn	Leu	Val	Arg	Glu	Glu	Pro	Thr
					165					170					175	
45	Leu	Glu	Leu	Leu	Lys	Glu	Tyr	Arg	Glu	Leu	Arg	Ala	Leu	Phe	Leu	Arg
				180					185					190		
50	Glu	Gln	Leu	Phe	Lys	Ser	Ser	Lys	Ser	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Lys	Thr	Leu
			195					200					205			
55	Ile	Asn	Val	Ser	Ile	Val	Ala	Thr	Ser	Ile	Ala	Ile	Ile	Ser	Leu	Tyr
		210					215					220				
60	Lys	Ser	Tyr	Arg	Ala	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Met	Gly	Leu	Phe
	225					230					235					240
65	Ile	Gln	Gln	Cys	Gly	Trp	Leu	Ser	His	Asp	Phe	Leu	His	His	Gln	Val
					245					250					255	
70	Phe	Glu	Thr	Arg	Trp	Leu	Asn	Asp	Val	Val	Gly	Tyr	Val	Val	Gly	Asn
				260					265					270		
75	Val	Val	Leu	Gly	Phe	Ser	Val	Ser	Trp	Trp	Lys	Thr	Lys	His	Asn	Leu
			275					280					285			
80	His	His	Ala	Ala	Pro	Asn	Glu	Cys	Asp	Gln	Lys	Tyr	Thr	Pro	Ile	Asp
		290					295					300				
85	Glu	Asp	Ile	Asp	Thr	Leu	Pro	Ile	Ile	Ala	Trp	Ser	Lys	Asp	Leu	Leu
	305					310					315					320
90	Ala	Thr	Val	Glu	Ser	Lys	Thr	Met	Leu	Arg	Val	Leu	Gln	Tyr	Gln	His

36

325

330

335

5 Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe
340 345 350

10 Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys
355 360 365

15 Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser
370 375 380

20 Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val
385 390 395 400

25 Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu
405 410 415

30 Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn
420 425 430

35 Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp
435 440 445

40 Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro
450 455 460

45 Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr
465 470 475 480

50 Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser
485 490 495

55 Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala
500 505 510

60 Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser
515 520

<210> 21

<211> 1434

<212> DNA

<213> Phaeodactylum tricornutum

65 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(1434)

<223> Delta-6-Desaturase

70 <400> 21
atg ggc aaa gga ggg gac gct cgg gcc tcg aag ggc tca acg gcg gct

37

	Met	Gly	Lys	Gly	Gly	Asp	Ala	Arg	Ala	Ser	Lys	Gly	Ser	Thr	Ala	Ala	
	1				5					10					15		
5	cgc	aag	atc	agt	tgg	cag	gaa	gtc	aag	acc	cac	gcg	tct	cgc	gag	gac	96
	Arg	Lys	Ile	Ser	Trp	Gln	Glu	Val	Lys	Thr	His	Ala	Ser	Pro	Glu	Asp	
				20					25					30			
10	gcc	tgg	atc	att	cac	tcc	aat	aag	gtc	tac	gac	gtg	tcc	aac	tgg	cac	144
	Ala	Trp	Ile	Ile	His	Ser	Asn	Lys	Val	Tyr	Asp	Val	Ser	Asn	Trp	His	
				35					40					45			
15	gaa	cat	ccc	gga	ggc	gcc	gtc	att	ttc	acg	cac	gcc	ggt	gac	gac	atg	192
	Glu	His	Pro	Gly	Gly	Ala	Val	Ile	Phe	Thr	His	Ala	Gly	Asp	Asp	Met	
				50					55				60				
20	acg	gac	att	ttc	gct	gcc	ttt	cac	gca	ccc	gga	tcg	cag	tcg	ctc	atg	240
	Thr	Asp	Ile	Phe	Ala	Ala	Phe	His	Ala	Pro	Gly	Ser	Gln	Ser	Leu	Met	
																80	
25	aag	aag	ttc	tac	att	ggc	gaa	ttg	ctc	ccg	gaa	acc	acc	ggc	aag	gag	288
	Lys	Lys	Phe	Tyr	Ile	Gly	Glu	Leu	Leu	Pro	Glu	Thr	Thr	Gly	Lys	Glu	
																95	
30	ccg	cag	caa	atc	gcc	ttt	gaa	aag	ggc	tac	cgc	gat	ctg	cgc	tcc	aaa	336
	Pro	Gln	Gln	Ile	Ala	Phe	Glu	Lys	Gly	Tyr	Arg	Asp	Leu	Arg	Ser	Lys	
																110	
35	ctc	atc	atg	atg	ggc	atg	ttc	aag	tcc	aac	aag	tgg	ttc	tac	gtc	tac	384
	Leu	Ile	Met	Met	Gly	Met	Phe	Lys	Ser	Asn	Lys	Trp	Phe	Tyr	Val	Tyr	
																125	
40	aag	tgc	ctc	agc	aac	atg	gcc	att	tgg	gcc	gcc	gcc	tgt	gct	ctc	gtc	432
	Lys	Cys	Leu	Ser	Asn	Met	Ala	Ile	Trp	Ala	Ala	Ala	Cys	Ala	Leu	Val	
																140	
45	ttt	tac	tcg	gac	cgc	ttc	tgg	gta	cac	ctg	gcc	agc	gcc	gtc	atg	ctg	480
	Phe	Tyr	Ser	Asp	Arg	Phe	Trp	Val	His	Leu	Ala	Ser	Ala	Val	Met	Leu	
																160	
50	gga	aca	ttc	ttt	cag	cag	tcg	gga	tgg	ttg	gca	cac	gac	ttt	ctg	cac	528
	Gly	Thr	Phe	Phe	Gln	Gln	Ser	Gly	Trp	Leu	Ala	His	Asp	Phe	Leu	His	
																175	
55	cac	cag	gtc	ttc	acc	aag	cgc	aag	cac	ggg	gat	ctc	gga	gga	ctc	ttt	576
	His	Gln	Val	Phe	Thr	Lys	Arg	Lys	His	Gly	Asp	Leu	Gly	Gly	Leu	Phe	
																190	
60	tgg	ggg	aac	ctc	atg	cag	ggt	tac	tcc	gta	cag	tgg	tgg	aaa	aac	aag	624
	Trp	Gly	Asn	Leu	Met	Gln	Gly	Tyr	Ser	Val	Gln	Trp	Trp	Lys	Asn	Lys	
																205	
65	cac	aac	gga	cac	cac	gcc	gtc	ccc	aac	ctc	cac	tgc	tcc	tcc	gca	gtc	672
	His	Asn	Gly	His	His	Ala	Val	Pro	Asn	Leu	His	Cys	Ser	Ser	Ala	Val	
																220	
70	gcg	caa	gat	ggg	gac	ccg	gac	atc	gat	acc	atg	ccc	ctt	ctc	gcc	tgg	720
	Ala	Gln	Asp	Gly	Asp	Pro	Asp	Ile	Asp	Thr	Met	Pro	Leu	Leu	Ala	Trp	
																240	
75	tcc	gtc	cag	caa	gcc	cag	tct	tac	cgg	gaa	ctc	caa	gcc	gac	gga	aag	768
	Ser	Val	Gln	Gln	Ala	Gln	Ser	Tyr	Arg	Glu	Leu	Gln	Ala	Asp	Gly	Lys	
																255	
80	gat	tcg	ggt	ttg	gtc	aag	ttc	atg	atc	cgt	aac	caa	tcc	tac	ttt	tac	816
	Asp	Ser	Gly	Leu	Val	Lys	Phe	Met	Ile	Arg	Asn	Gln	Ser	Tyr	Phe	Tyr	
																270	
85	ttt	ccc	atc	ttg	ttg	ctc	gcc	cgc	ctg	tcg	tgg	ttg	aac	gag	tcc	ttc	864
	Phe	Pro	Ile	Leu	Leu	Leu	Ala	Arg	Leu	Ser	Trp	Leu	Asn	Glu	Ser	Phe	
																285	
90	aag	tgc	gcc	ttt	ggg	ctt	gga	gct	gcg	tcg	gag	aac	gct	gct	ctc	gaa	912
	Lys	Cys	Ala	Phe	Gly	Leu	Gly	Ala	Ala	Ser	Glu	Asn	Ala	Ala	Leu	Glu	

38

	290	295	300	
5	ctc aag gcc aag ggt ctt cag tac ccc ctt ttg gaa aag gct ggc atc Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile 305 310 315 320			960
10	ctg ctg cac tac gct tgg atg ctt aca gtt tgc tcc ggc ttt gga cgc Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg 325 330 335			1008
15	ttc tgc ttc gcg tac acc gca ttt tac ttt cta acc gcg acc gcg tcc Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser 340 345 350			1056
20	tgt gga ttc ttg ctc gcc att gtc ttt ggc ctc ggc cac aac ggc atg Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met 355 360 365			1104
25	gcc acc tac aat gcc gac gcc cgt cgc gac ttc tgg aag ctc caa gtc Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val 370 375 380			1152
30	acc acg act cgc aac gtc acg ggc gga cac ggt ttc ccc caa gcc ttt Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe 385 390 395 400			1200
35	gtc gac tgg ttc tgt ggt ggc ctc cag tac caa gtc gac cac cac tta Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu 405 410 415			1248
40	ttc ccc agc ctg ccc cga cac aat ctg gcc aag aca cac gca ctg gtc Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val 420 425 430			1296
45	gaa tgc ttc tgc aag gag tgg ggt gtc cag tac cac gaa gcc gac ctt Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu 435 440 445			1344
50	gtg gac ggg acc atg gaa gtc ttg cac cat ttg ggc agc gtg gcc ggc Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly 450 455 460			1392
55	gaa ttc gtc gtg gat ttt gta cgc gat gga ccc gcc atg taa Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met 465 470 475			1434
60	<210> 22			
65	<211> 477			
70	<212> PRT			
	<213> Phaeodactylum tricornutum			
	<400> 22			
60	Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala 1 5 10 15			
65	Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp 20 25 30			
70	Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His 35 40 45			
	Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met 50 55 60			

39

5 Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met
 65 70 75 80
 Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu
 85 90 95
 10 Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys
 100 105 110
 15 Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr
 115 120 125
 20 Lys Cys Leu Ser Asn Met Ala Ile Trp Ala Ala Ala Cys Ala Leu Val
 130 135 140
 25 Phe Tyr Ser Asp Arg Phe Trp Val His Leu Ala Ser Ala Val Met Leu
 145 150 155 160
 Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His
 165 170 175
 30 His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe
 180 185 190
 35 Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys
 195 200 205
 40 His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val
 210 215 220
 45 Ala Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp
 225 230 235 240
 Ser Val Gln Gln Ala Gln Ser Tyr Arg Glu Leu Gln Ala Asp Gly Lys
 245 250 255
 50 Asp Ser Gly Leu Val Lys Phe Met Ile Arg Asn Gln Ser Tyr Phe Tyr
 260 265 270
 55 Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe
 275 280 285
 60 Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu
 290 295 300
 65 Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile
 305 310 315 320
 Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg
 325 330 335
 70 Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser
 340 345 350

40

Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met
 355 360 365
 5 Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val
 370 375 380
 10 Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe
 385 390 395 400
 15 Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu
 405 410 415
 20 Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val
 420 425 430
 25 Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu
 435 440 445
 Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly
 450 455 460
 30 Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met
 465 470 475
 35 <210> 23
 <211> 1578
 <212> DNA
 40 <213> Physcomitrella patens
 45 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1578)
 50 <223> Delta-6-Desaturase
 55 <400> 23
 atg gta ttc gcg ggc ggt gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac 48
 Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn
 1 5 10 15
 60 atc gac gtc gag cac att gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc 96
 Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe
 20 25 30
 65 agt tat gtg tct tca act gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa 144
 Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln
 35 40 45
 cct ttg aag cgc ctg acg agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc 192
 Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala
 50 55 60
 70 gtg caa tgt ata tca gct gaa gtt cag aga aat tcg agt acc cag gga 240
 Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly
 65 70 75 80

41

5	act gcg gag gca ctc gca gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg 85 90 95	288
10	tca tct cag tgg aag aag tcg aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val 100 105 110	336
15	cac aac aag cca agc gat tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr 115 120 125	384
20	gat gtt tcc aat ttt gcg gac gag cat ccc gga gga tca gtt att agt Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 130 135 140	432
25	act tat ttt gga cga gac ggc aca gat gtt ttc tct agt ttt cat gca Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 145 150 155 160	480
30	gct tct aca tgg aaa att ctt caa gac ttt tac att ggt gac gtg gag Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175	528
35	agg gtg gag ccg act cca gag ctg ctg aaa gat ttc cga gaa atg aga Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190	576
40	gct ctt ttc ctg agg gag caa ctt ttc aaa agt tcg aaa ttg tac tat Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr 195 200 205	624
45	gtt atg aag ctg ctc acg aat gtt gct att ttt gct gcg agc att gca Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 210 215 220	672
50	ata ata tgt tgg agc aag act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys 225 230 235 240	720
55	atg atg gct ctg tgt ttc caa cag tgc gga tgg cta tcc cat gat ttt Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 245 250 255	768
60	ctc cac aat cag gtg ttt gag aca cgc tgg ctt aat gaa gtt gtc ggg Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly 260 265 270	816
65	tat gtg atc ggc aac gcc gtt ctg ggg ttt agt aca ggg tgg tgg aag Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys 275 280 285	864
70	gag aag cat aac ctt cat cat gct gct cca aat gaa tgc gat cag act Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 290 295 300	912
75	tac caa cca att gat gaa gat att gat act ctc ccc ctc att gcc tgg Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 305 310 315 320	960
80	agc aag gac ata ctg gcc aca gtt gag aat aag aca ttc ttg cga atc Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 325 330 335	1008
85	ctc caa tac cag cat ctg ttc ttc atg ggt ctg tta ttt ttc gcc cgt Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 340 345 350	1056
90	ggg agt tgg ctc ttt tgg agc tgg aga tat acc tct aca gca gtg ctc Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 355 360 365	1104

42

	tca cct gtc gac agg ttg ttg gag aag gga act gtt ctg ttt cac tac	1152
	Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr	
	370 375 380	
5	ttt tgg ttc gtc ggg aca gcg tgc tat ctt ctc cct ggt tgg aag cca	1200
	Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro	
	385 390 395 400	
10	tta gta tgg atg gcg gtg act gag ctc atg tcc ggc atg ctg ctg ggc	1248
	Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly	
	405 410 415	
15	ttt gta ttt gta ctt agc cac aat ggg atg gag gtt tat aat tgc tct	1296
	Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser	
	420 425 430	
20	aaa gaa ttc gtg agt gca cag atc gta tcc aca cgg gat atc aaa gga	1344
	Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly	
	435 440 445	
25	aac ata ttc aac gac tgg ttc act ggt ggc ctt aac agg caa ata gag	1392
	Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu	
	450 455 460	
30	cat cat ctt ttc cca aca atg ccc agg cat aat tta aac aaa ata gca	1440
	His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala	
	465 470 475 480	
35	cct aga gtg gag gtg ttc tgt aag aaa cac ggt ctg gtg tac gaa gac	1488
	Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp	
	485 490 495	
40	gta tct att gct acc ggc act tgc aag gtt ttg aaa gca ttg aag gaa	1536
	Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu	
	500 505 510	
45	gtc gcg gag gct gcg gca gag cag cat gct acc acc agt taa	1578
	Val Ala Glu Ala Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser	
	515 520 525	
	<210> 24	
	<211> 525	
	<212> PRT	
	<213> Physcomitrella patens	
50	<400> 24	
55	Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn	
	1 5 10 15	
60	Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe	
	20 25 30	
65	Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln	
	35 40 45	
70	Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala	
	50 55 60	
	Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly	
	65 70 75 80	

43

	Thr	Ala	Glu	Ala	Leu	Ala	Glu	Ser	Val	Val	Lys	Pro	Thr	Arg	Arg	Arg
					85					90					95	
5	Ser	Ser	Gln	Trp	Lys	Lys	Ser	Thr	His	Pro	Leu	Ser	Glu	Val	Ala	Val
				100					105					110		
10	His	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp	Cys	Trp	Ile	Val	Val	Lys	Asn	Lys	Val	Tyr
			115					120					125			
15	Asp	Val	Ser	Asn	Phe	Ala	Asp	Glu	His	Pro	Gly	Gly	Ser	Val	Ile	Ser
		130					135					140				
20	Thr	Tyr	Phe	Gly	Arg	Asp	Gly	Thr	Asp	Val	Phe	Ser	Ser	Phe	His	Ala
	145					150					155					160
25	Ala	Ser	Thr	Trp	Lys	Ile	Leu	Gln	Asp	Phe	Tyr	Ile	Gly	Asp	Val	Glu
					165					170					175	
30	Arg	Val	Glu	Pro	Thr	Pro	Glu	Leu	Leu	Lys	Asp	Phe	Arg	Glu	Met	Arg
				180					185					190		
35	Ala	Leu	Phe	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Phe	Lys	Ser	Ser	Lys	Leu	Tyr	Tyr
			195					200					205			
40	Val	Met	Lys	Leu	Leu	Thr	Asn	Val	Ala	Ile	Phe	Ala	Ala	Ser	Ile	Ala
		210					215					220				
45	Ile	Ile	Cys	Trp	Ser	Lys	Thr	Ile	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	Ser	Ala	Cys
	225					230					235					240
50	Met	Met	Ala	Leu	Cys	Phe	Gln	Gln	Cys	Gly	Trp	Leu	Ser	His	Asp	Phe
					245					250					255	
55	Leu	His	Asn	Gln	Val	Phe	Glu	Thr	Arg	Trp	Leu	Asn	Glu	Val	Val	Gly
				260					265					270		
60	Tyr	Val	Ile	Gly	Asn	Ala	Val	Leu	Gly	Phe	Ser	Thr	Gly	Trp	Trp	Lys
			275					280					285			
65	Glu	Lys	His	Asn	Leu	His	His	Ala	Ala	Pro	Asn	Glu	Cys	Asp	Gln	Thr
		290					295					300				
70	Tyr	Gln	Pro	Ile	Asp	Glu	Asp	Ile	Asp	Thr	Leu	Pro	Leu	Ile	Ala	Trp
	305					310					315					320
75	Ser	Lys	Asp	Ile	Leu	Ala	Thr	Val	Glu	Asn	Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	Ile
					325					330					335	
80	Leu	Gln	Tyr	Gln	His	Leu	Phe	Phe	Met	Gly	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Arg
				340					345					350		
85	Gly	Ser	Trp	Leu	Phe	Trp	Ser	Trp	Arg	Tyr	Thr	Ser	Thr	Ala	Val	Leu
			355					360					365			
90	Ser	Pro	Val	Asp	Arg	Leu	Leu	Glu	Lys	Gly	Thr	Val	Leu	Phe	His	Tyr

44

	370		375			380	
5	Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro 385 390 395 400						
10	Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly 405 410 415						
15	Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser 420 425 430						
20	Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly 435 440 445						
25	Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 450 455 460						
30	His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 465 470 475 480						
35	Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp 485 490 495						
40	Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu 500 505 510						
45	Val Ala Glu Ala Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser 515 520 525						
50	<210> 25						
55	<211> 1332						
60	<212> DNA						
65	<213> Caenorhabditis elegans						
70	<220>						
75	<221> CDS						
80	<222> (1)..(1332)						
85	<223> Delta-6-Desaturase						
90	<400> 25						
95	atg gtc gtc gac aag aat gcc tcc ggg ctt cga atg aag gtc gat ggc Met Val Val Asp Lys Asn Ala Ser Gly Leu Arg Met Lys Val Asp Gly 1 5 10 15						48
100	aaa tgg ctc tac ctt agc gag gaa ttg gtg aag aaa cat cca gga gga Lys Trp Leu Tyr Leu Ser Glu Glu Leu Val Lys Lys His Pro Gly Gly 20 25 30						96
105	gct gtt att gaa caa tat aga aat tcc gat gct act cat att ttc cac Ala Val Ile Glu Gln Tyr Arg Asn Ser Asp Ala Thr His Ile Phe His 35 40 45						144
110	gct ttc cac gaa gga tct tct cag gct tat aag caa ctt gac ctt ctg						192

45

	Ala	Phe	His	Glu	Gly	Ser	Ser	Gln	Ala	Tyr	Lys	Gln	Leu	Asp	Leu	Leu	
	50						55					60					
5	aaa	aag	cac	gga	gag	cac	gat	gaa	ttc	ctt	gag	aaa	caa	ttg	gaa	aag	240
	Lys	Lys	His	Gly	Glu	His	Asp	Glu	Phe	Leu	Glu	Lys	Gln	Leu	Glu	Lys	
	65					70					75					80	
10	aga	ctt	gac	aaa	gtt	gat	atc	aat	gta	tca	gca	tat	gat	gtc	agt	gtt	288
	Arg	Leu	Asp	Lys	Val	Asp	Ile	Asn	Val	Ser	Ala	Tyr	Asp	Val	Ser	Val	
					85					90					95		
15	gca	caa	gaa	aag	aaa	atg	gtt	gaa	tca	ttc	gaa	aaa	cta	cga	cag	aag	336
	Ala	Gln	Glu	Lys	Lys	Met	Val	Glu	Ser	Phe	Glu	Lys	Leu	Arg	Gln	Lys	
				100					105					110			
20	ctt	cat	gat	gat	gga	tta	atg	aaa	gca	aat	gaa	aca	tat	ttc	ctg	ttt	384
	Leu	His	Asp	Asp	Gly	Leu	Met	Lys	Ala	Asn	Glu	Thr	Tyr	Phe	Leu	Phe	
			115					120					125				
25	aaa	gcg	att	tca	aca	ctt	tca	att	atg	gca	ttt	gca	ttt	tat	ctt	cag	432
	Lys	Ala	Ile	Ser	Thr	Leu	Ser	Ile	Met	Ala	Phe	Ala	Phe	Tyr	Leu	Gln	
		130					135					140					
30	tat	ctt	gga	tgg	tat	att	act	tct	gca	tgt	tta	tta	gca	ctt	gca	tgg	480
	Tyr	Leu	Gly	Trp	Tyr	Ile	Thr	Ser	Ala	Cys	Leu	Leu	Ala	Leu	Ala	Trp	
	145					150					155					160	
35	caa	caa	ttc	gga	tgg	tta	aca	cat	gag	ttc	tgc	cat	caa	cag	cca	aca	528
	Gln	Gln	Phe	Gly	Trp	Leu	Thr	His	Glu	Phe	Cys	His	Gln	Gln	Pro	Thr	
					165					170					175		
40	aag	aac	aga	cct	ttg	aat	gat	act	att	tct	ttg	ttc	ttt	ggt	aat	ttc	576
	Lys	Asn	Arg	Pro	Leu	Asn	Asp	Thr	Ile	Ser	Leu	Phe	Phe	Gly	Asn	Phe	
				180					185					190			
45	tta	caa	gga	ttt	tca	aga	gat	tgg	tgg	aag	gac	aag	cat	aac	act	cat	624
	Leu	Gln	Gly	Phe	Ser	Arg	Asp	Trp	Trp	Lys	Asp	Lys	His	Asn	Thr	His	
			195					200					205				
50	cac	gct	gcc	aca	aat	gta	att	gat	cat	gac	ggt	gat	atc	gac	ttg	gca	672
	His	Ala	Ala	Thr	Asn	Val	Ile	Asp	His	Asp	Gly	Asp	Ile	Asp	Leu	Ala	
		210				215						220					
55	cca	ctt	ttc	gca	ttt	att	cca	gga	gat	ttg	tgc	aag	tat	aag	gcc	agc	720
	Pro	Leu	Phe	Ala	Phe	Ile	Pro	Gly	Asp	Leu	Cys	Lys	Tyr	Lys	Ala	Ser	
	225					230					235					240	
60	ttt	gaa	aaa	gca	att	ctc	aag	att	gta	cca	tat	caa	cat	ctc	tat	ttc	768
	Phe	Glu	Lys	Ala	Ile	Leu	Lys	Ile	Val	Pro	Tyr	Gln	His	Leu	Tyr	Phe	
					245				250						255		
65	acc	gca	atg	ctt	cca	atg	ctc	cgt	ttc	tca	tgg	act	ggt	cag	tca	gtt	816
	Thr	Ala	Met	Leu	Pro	Met	Leu	Arg	Phe	Ser	Trp	Thr	Gly	Gln	Ser	Val	
				260					265					270			
70	caa	tgg	gta	ttc	aaa	gag	aat	caa	atg	gag	tac	aag	gtc	tat	caa	aga	864
	Gln	Trp	Val	Phe	Lys	Glu	Asn	Gln	Met	Glu	Tyr	Lys	Val	Tyr	Gln	Arg	
			275					280					285				
75	aat	gca	ttc	tgg	gag	caa	gca	aca	att	gtt	gga	cat	tgg	gct	tgg	gta	912
	Asn	Ala	Phe	Trp	Glu	Gln	Ala	Thr	Ile	Val	Gly	His	Trp	Ala	Trp	Val	
		290					295					300					
80	ttc	tat	caa	ttg	ttc	tta	tta	cca	aca	tgg	cca	ctt	cgg	gtt	gct	tat	960
	Phe	Tyr	Gln	Leu	Phe	Leu	Leu	Pro	Thr	Trp	Pro	Leu	Arg	Val	Ala	Tyr	
	305					310					315					320	
85	ttc	att	att	tca	caa	atg	gga	gga	ggc	ctt	ttg	att	gct	cac	gta	gtc	1008
	Phe	Ile	Ile	Ser	Gln	Met	Gly	Gly	Gly	Leu	Leu	Ile	Ala	His	Val	Val	
					325					330					335		
90	act	ttc	aac	cat	aac	tct	gtt	gat	aag	tat	cca	gcc	aat	tct	cga	att	1056
	Thr	Phe	Asn	His	Asn	Ser	Val	Asp	Lys	Tyr	Pro	Ala	Asn	Ser	Arg	Ile	

46

	340	345	350	
5	tta aac aac ttc gcc gct ctt caa att ttg acc aca cgc aac atg act Leu Asn Asn Phe Ala Ala Leu Gln Ile Leu Thr Thr Arg Asn Met Thr 355 360 365	1104		
10	cca tct cca ttc att gat tgg ctt tgg ggt gga ctc aat tat cag atc Pro Ser Pro Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile 370 375 380	1152		
15	gag cac cac ttg ttc cca aca atg cca cgt tgc aat ctg aat gct tgc Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg Cys Asn Leu Asn Ala Cys 385 390 395 400	1200		
20	gtg aaa tat gtg aaa gaa tgg tgc aaa gag aat aat ctt cct tac ctc Val Lys Tyr Val Lys Glu Trp Cys Lys Glu Asn Asn Leu Pro Tyr Leu 405 410 415	1248		
25	gtc gat gac tac ttt gac gga tat gca atg aat ttg caa caa ttg aaa Val Asp Asp Tyr Phe Asp Gly Tyr Ala Met Asn Leu Gln Gln Leu Lys 420 425 430	1296		
30	aat atg gct gag cac att caa gct aaa gct gcc taa Asn Met Ala Glu His Ile Gln Ala Lys Ala Ala 435 440	1332		
35	<210> 26			
40	<211> 443			
45	<212> PRT			
50	<213> Caenorhabditis elegans			
55	<400> 26			
60	Met Val Val Asp Lys Asn Ala Ser Gly Leu Arg Met Lys Val Asp Gly 1 5 10 15			
65	Lys Trp Leu Tyr Leu Ser Glu Glu Leu Val Lys Lys His Pro Gly Gly 20 25 30			
70	Ala Val Ile Glu Gln Tyr Arg Asn Ser Asp Ala Thr His Ile Phe His 35 40 45			
75	Ala Phe His Glu Gly Ser Ser Gln Ala Tyr Lys Gln Leu Asp Leu Leu 50 55 60			
80	Lys Lys His Gly Glu His Asp Glu Phe Leu Glu Lys Gln Leu Glu Lys 65 70 75 80			
85	Arg Leu Asp Lys Val Asp Ile Asn Val Ser Ala Tyr Asp Val Ser Val 85 90 95			
90	Ala Gln Glu Lys Lys Met Val Glu Ser Phe Glu Lys Leu Arg Gln Lys 100 105 110			
95	Leu His Asp Asp Gly Leu Met Lys Ala Asn Glu Thr Tyr Phe Leu Phe 115 120 125			
100	Lys Ala Ile Ser Thr Leu Ser Ile Met Ala Phe Ala Phe Tyr Leu Gln 130 135 140			

5 Tyr Leu Gly Trp Tyr Ile Thr Ser Ala Cys Leu Leu Ala Leu Ala Trp
145 150 155 160

10 Gln Gln Phe Gly Trp Leu Thr His Glu Phe Cys His Gln Gln Pro Thr
165 170 175

15 Lys Asn Arg Pro Leu Asn Asp Thr Ile Ser Leu Phe Phe Gly Asn Phe
180 185 190

20 His Ala Ala Thr Asn Val Ile Asp His Asp Gly Asp Ile Asp Leu Ala
210 215 220

25 Pro Leu Phe Ala Phe Ile Pro Gly Asp Leu Cys Lys Tyr Lys Ala Ser
225 230 235 240

30 Phe Glu Lys Ala Ile Leu Lys Ile Val Pro Tyr Gln His Leu Tyr Phe
245 250 255

35 Thr Ala Met Leu Pro Met Leu Arg Phe Ser Trp Thr Gly Gln Ser Val
260 265 270

40 Gln Trp Val Phe Lys Glu Asn Gln Met Glu Tyr Lys Val Tyr Gln Arg
275 280 285

45 Asn Ala Phe Trp Glu Gln Ala Thr Ile Val Gly His Trp Ala Trp Val
290 295 300

50 Phe Tyr Gln Leu Phe Leu Leu Pro Thr Trp Pro Leu Arg Val Ala Tyr
305 310 315 320

55 Phe Ile Ile Ser Gln Met Gly Gly Gly Leu Leu Ile Ala His Val Val
325 330 335

60 Thr Phe Asn His Asn Ser Val Asp Lys Tyr Pro Ala Asn Ser Arg Ile
340 345 350

65 Leu Asn Asn Phe Ala Ala Leu Gln Ile Leu Thr Thr Arg Asn Met Thr
355 360 365

70 Pro Ser Pro Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile
370 375 380

75 Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg Cys Asn Leu Asn Ala Cys
385 390 395 400

80 Val Lys Tyr Val Lys Glu Trp Cys Lys Glu Asn Asn Leu Pro Tyr Leu
405 410 415

85 Val Asp Asp Tyr Phe Asp Gly Tyr Ala Met Asn Leu Gln Gln Leu Lys
420 425 430

Asn Met Ala Glu His Ile Gln Ala Lys Ala Ala
 435 440

5

<210> 27

<211> 873

10

<212> DNA

<213> Physcomitrella patens

15

<220>

<221> CDS

20

<222> (1) .. (873)

<223> Delta-6-Elongase

25

<400> 27

atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag ttg gat ggg aag gtc tcg 48
Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser
1 5 10 15

30

cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt ggg gtg gag ttg acg gat 96
Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp
20 25 30

35

acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt gac agt ccc aca ccc atc 144
Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile
35 40 45

40

gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att gtc att gga ggg ctt ttg 192
Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu
50 55 60

45

tgg	ata	aag	gcc	agg	gat	ctg	aaa	cgg	cgc	gcc	tgc	gag	cca	ttt	ttg	240
Trp	Ile	Lys	Ala	Arg	Asp	Leu	Lys	Pro	Arg	Ala	Ser	Glu	Pro	Phe	Leu	
65					70					75					80	

ctc caa gct ttg gtg ctt gtg cac aac ctg ttc tgt ttt gcg ctc agt 288
Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser
85 90 95

50

ctg tat atg tgc gtg ggc atc gct tat cag gct att acc tgg cgg tac 336
Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr
100 105 110

55

tct ctc tgg ggc aat gca tac aat cct aaa cat aaa gag atg gcg att 384
Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile
115 120 125

60

ctg gta tac ttg ttc tac atg tct aag tac gtg gaa ttc atg gat acc 432
Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr
130 135 140

65

```

gtt atc atg ata ctg aag cgc agc acc agg caa ata agc ttc ctc cac      480
Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His
145                      150                      155                      160

```

ggt tat cat cat tct tca att tcc ctc att tgg tgg gct att gct cat 528
Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His
165 170 175

70

cac gct cct ggc ggt gaa gca tat tgg tct gcg gct ctg aac tca gga 576
 His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly
 180 185 190

49

5	gtg cat gtt ctc atg tat gcg tat tac ttc ttg gct gcc tgc ctt cga Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg 195 200 205	624
10	aga agc cca aag tta aaa aat aag tac ctt ttt tgg ggc agg tac ttg Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu 210 215 220	672
15	aca caa ttc caa atg ttc cag ttt atg ctg aac tta gtg cag gct tac Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr 225 230 235 240	720
20	tac gac atg aaa acg aat gcg cca tat cca caa tgg ctg atc aag att Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile 245 250 255	768
25	ttg ttc tac tac atg atc tgc ttg ctg ttt ctt ttc ggc aat ttt tac Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr 260 265 270	816
30	gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga aag caa aag gga gct aaa Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys 275 280 285	864
35	act gag tga Thr Glu 290	873
40	<210> 28 <211> 290 <212> PRT <213> Physcomitrella patens	
45	<400> 28 Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser 1 5 10 15	
50	Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 20 25 30	
55	Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile 35 40 45	
60	Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 50 55 60	
65	Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu 65 70 75 80	
70	Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser 85 90 95	
	Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr 100 105 110	
	Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile 115 120 125	

50

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr
 130 135 140
 5 Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His
 145 150 155 160
 10 Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His
 165 170 175
 15 His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly
 180 185 190
 20 Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg
 195 200 205
 25 Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu
 210 215 220
 Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr
 225 230 235 240
 30 Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile
 245 250 255
 35 Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr
 260 265 270
 40 Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys
 275 280 285
 Thr Glu
 290
 45 <210> 29
 <211> 1049
 50 <212> DNA
 <213> Thraustochytrium
 55 <220>
 <221> CDS
 60 <222> (43)..(858)
 <223> Delta-6-Elongase
 65 <400> 29
 gaattcggca cgagagcgcg cggagcggag acctcgggccg cg atg atg gag ccg 54
 Met Met Glu Pro
 1
 70 ctc gac agg tac agg gcg ctg gcg gag ctc gcc gcg agg tac gcc agc 102
 Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala Arg Tyr Ala Ser
 5 10 15 20

51

5	tcg gcg gcc ttc aag tgg caa gtc acg tac gac gcc aag gac agc ttc Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala Lys Asp Ser Phe 25 30 35	150
10	gtc ggg ccc ctg gga atc cgg gag ccg ctc ggg ctc ctg gtg ggc tcc Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu Leu Val Gly Ser 40 45 50	198
15	gtg gtc ctc tac ctg agc ctg ctg gcc gtg gtc tac gcg ctg cgg aac Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr Ala Leu Arg Asn 55 60 65	246
20	tac ctt ggc ggc ctc atg gcg ctc cgc agc gtg cat aac ctc ggg ctc Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His Asn Leu Gly Leu 70 75 80	294
25	tgc ctc ttc tcg ggc gcc gtg tgg atc tac acg agc tac ctc atg atc Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser Tyr Leu Met Ile 85 90 95 100	342
30	cag gat ggg cac ttt cgc agc ctc gag gcg gca acg tgc gag ccg ctc Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr Cys Glu Pro Leu 105 110 115	390
35	aag cat ccg cac ttc cag ctc atc agc ttg ctc ttt gcg ctg tcc aag Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe Ala Leu Ser Lys 120 125 130	438
40	atc tgg gag tgg ttc gac acg gtg ctc ctc atc gtc aag ggc aac aag Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val Lys Gly Asn Lys 135 140 145	486
45	ctc cgc ttc ctg cac gtc ttg cac cac gcc acg acc ttt tgg ctc tac Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr Phe Trp Leu Tyr 150 155 160	534
50	gcc atc gac cac atc ttt ctc tcg tcc atc aag tac ggc gtc gcg gtc Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr Gly Val Ala Val 165 170 175 180	582
55	aat gct ttc atc cac acc gtc atg tac gcg cac tac ttc cgc cca ttc Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr Phe Arg Pro Phe 185 190 195	630
60	ccg aag ggc ttg cgc ccg ctt att acg cag ttg cag atc gtc cag ttc Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln Ile Val Gln Phe 200 205 210	678
65	att ttc agc atc ggc atc cat acc gcc att tac tgg cac tac gac tgc Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp His Tyr Asp Cys 215 220 225	726
70	gag ccg ctc gtg cat acc cac ttt tgg gaa tac gtc acg ccc tac ctt Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val Thr Pro Tyr Leu 230 235 240	774
75	ttc gtc gtg ccc ttc ctc atc ctc ttt ttc aat ttt tac ctg cag cag Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe Tyr Leu Gln Gln 245 250 255 260	822
80	tac gtc ctc gcg ccc gca aaa acc aag aag gca tag ccacgtaaca Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala 265 270	868
85	gtagaccagc agcgccgagg acgcggtgccg cgttatcgcg aagcacgaaa taaagaagat	928
90	catttgattc aacgaggcta cttgcggcca cgagaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	988
95	aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1048
100	c	1049

52

5 <210> 30
 <211> 271
 <212> PRT
 <213> Thraustochytrium
 10
 <400> 30
 15 Met Met Glu Pro Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala
 1 5 10 15
 20 Arg Tyr Ala Ser Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala
 20 25 30
 Lys Asp Ser Phe Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu
 35 40 45
 25 Leu Val Gly Ser Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr
 50 55 60
 30 Ala Leu Arg Asn Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His
 65 70 75 80
 35 Asn Leu Gly Leu Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser
 85 90 95
 40 Tyr Leu Met Ile Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr
 100 105 110
 Cys Glu Pro Leu Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe
 115 120 125
 45 Ala Leu Ser Lys Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val
 130 135 140
 50 Lys Gly Asn Lys Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr
 145 150 155 160
 55 Phe Trp Leu Tyr Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr
 165 170 175
 60 Gly Val Ala Val Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr
 180 185 190
 Phe Arg Pro Phe Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln
 195 200 205
 65 Ile Val Gln Phe Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp
 210 215 220
 70 His Tyr Asp Cys Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val
 225 230 235 240

53

	Thr	Pro	Tyr	Leu	Phe	Val	Val	Pro	Phe	Leu	Ile	Leu	Phe	Phe	Asn	Phe	
					245					250					255		
5	Tyr	Leu	Gln	Gln	Tyr	Val	Leu	Ala	Pro	Ala	Lys	Thr	Lys	Lys	Ala		
				260					265					270			
10	<210>	31															
	<211>	837															
	<212>	DNA															
15	<213>	Phytophthora infestans															
20	<220>																
	<221>	CDS															
	<222>	(1)..(837)															
25	<223>	Delta-6-Elongase															
30	<400>	31															
	atg	tgc	act	gag	cta	ctg	cag	agc	tac	tac	gcg	tgg	gcc	aac	gcc	acg	48
	Met	Ser	Thr	Glu	Leu	Leu	Gln	Ser	Tyr	Tyr	Ala	Trp	Ala	Asn	Ala	Thr	
	1				5					10					15		
35	gag	gcc	aag	ctg	ctg	gac	tgg	gtc	gac	cct	gag	ggc	ggc	tgg	aag	gtg	96
	Glu	Ala	Lys	Leu	Leu	Asp	Trp	Val	Asp	Pro	Glu	Gly	Gly	Trp	Lys	Val	
				20					25					30			
40	cat	cct	atg	gca	gac	tac	ccc	cta	gcc	aac	ttc	tcc	agc	gtc	tac	gcc	144
	His	Pro	Met	Ala	Asp	Tyr	Pro	Leu	Ala	Asn	Phe	Ser	Ser	Val	Tyr	Ala	
			35					40					45				
45	atc	tgc	gtc	gga	tac	ttg	ctc	ttc	gta	atc	ttc	ggc	acg	gcc	ctg	atg	192
	Ile	Cys	Val	Gly	Tyr	Leu	Leu	Phe	Val	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Leu	Met	
		50				55					60						
50	aaa	atg	gga	gtc	ccc	gcc	atc	aag	acc	agt	cca	tta	cag	ttt	gtg	tac	240
	Lys	Met	Gly	Val	Pro	Ala	Ile	Lys	Thr	Ser	Pro	Leu	Gln	Phe	Val	Tyr	
	65					70				75					80		
55	aac	ccc	atc	caa	gtc	att	gcc	tgc	tct	tat	atg	tgc	gtg	gag	gcc	gcc	288
	Asn	Pro	Ile	Gln	Val	Ile	Ala	Cys	Ser	Tyr	Met	Cys	Val	Glu	Ala	Ala	
				85						90					95		
60	atc	cag	gcc	tac	cgc	aac	ggc	tac	acc	gcc	gcc	ccg	tgc	aac	gcc	ttt	336
	Ile	Gln	Ala	Tyr	Arg	Asn	Gly	Tyr	Thr	Ala	Ala	Pro	Cys	Asn	Ala	Phe	
				100					105					110			
65	aag	tcc	gac	gac	ccc	gtc	atg	ggc	aac	gtt	ctg	tac	ctc	ttc	tat	ctc	384
	Lys	Ser	Asp	Asp	Pro	Val	Met	Gly	Asn	Val	Leu	Tyr	Leu	Phe	Tyr	Leu	
				115				120					125				
70	tcc	aag	atg	ctc	gac	ctg	tgc	gac	aca	gtc	ttc	att	atc	cta	gga	aag	432
	Ser	Lys	Met	Leu	Asp	Leu	Cys	Asp	Thr	Val	Phe	Ile	Ile	Leu	Gly	Lys	
				130			135					140					
75	aag	tgg	aaa	cag	ctt	tcc	atc	ttg	cac	gtg	tac	cac	cac	ctt	acc	gtg	480
	Lys	Trp	Lys	Gln	Leu	Ser	Ile	Leu	His	Val	Tyr	His	His	Leu	Thr	Val	
						150				155						160	
80	ctt	ttc	gtc	tac	tat	gtg	acg	ttc	cgc	gcc	gct	cag	gac	ggg	gac	tca	528
	Leu	Phe	Val	Tyr	Tyr	Val	Thr	Phe	Arg	Ala	Ala	Gln	Asp	Gly	Asp	Ser	
					165					170					175		

54

	tat gct acc atc gtg ctc aac ggc ttc gtg cac acc atc atg tac act	576
	Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr	
	180 185 190	
5	tac tac ttc gtc agc gcc cac acg cgc aac att tgg tgg aag aag tac	624
	Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr	
	195 200 205	
10	ctc acg cgc att cag ctt atc cag ttc gtg acc atg aac gtg cag ggc	672
	Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly	
	210 215 220	
15	tac ctg acc tac tct cga cag tgc cca ggc atg cct cct aag gtg ccg	720
	Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro	
	225 230 235 240	
20	ctc atg tac ctt gtg tac gtg cag tca ctc ttc tgg ctc ttc atg aat	768
	Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn	
	245 250 255	
	ttc tac att cgc gcg tac gtg ttc ggc ccc aag aaa ccg gcc gtg gag	816
	Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu	
	260 265 270	
25	gaa tcg aag aag aag ttg taa	837
	Glu Ser Lys Lys Lys Leu	
	275	
30	<210> 32	
	<211> 278	
	<212> PRT	
35	<213> Phytophthora infestans	
40	<400> 32	
	Met Ser Thr Glu Leu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr	
	1 5 10 15	
45	Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val	
	20 25 30	
50	His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala	
	35 40 45	
55	Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met	
	50 55 60	
60	Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr	
	65 70 75 80	
	Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala	
	85 90 95	
65	Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe	
	100 105 110	
70	Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu	
	115 120 125	

55

Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys
 130 135 140

5 Lys Trp Lys Gln Leu Ser Ile Leu His Val Tyr His His Leu Thr Val
 145 150 155 160

10 Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser
 165 170 175

15 Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr
 180 185 190

20 Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr
 195 200 205

25 Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly
 210 215 220

30 Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro
 225 230 235 240

35 Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn
 245 250 255

40 Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu
 260 265 270

45 Glu Ser Lys Lys Lys Leu
 275

<210> 33

<211> 954

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(954)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 33

atg gcc gcc gca atc ttg gac aag gtc aac ttc ggc att gat cag ccc 48
 Met Ala Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro
 1 5 10 15

65 ttc gga atc aag ctc gac acc tac ttt gct cag gcc tat gaa ctc gtc 96
 Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val
 20 25 30

70 acc gga aag tcc atc gac tcc ttc gtc ttc cag gag ggc gtc acg cct 144
 Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro
 35 40 45

56

	ctc	tcg	acc	cag	aga	gag	gtc	gcc	atg	tgg	act	atc	act	tac	ttc	gtc	192
	Leu	Ser	Thr	Gln	Arg	Glu	Val	Ala	Met	Trp	Thr	Ile	Thr	Tyr	Phe	Val	
	50						55					60					
5	gtc	atc	ttt	ggg	ggg	cgc	cag	atc	atg	aag	agc	cag	gac	gcc	ttc	aag	240
	Val	Ile	Phe	Gly	Gly	Arg	Gln	Ile	Met	Lys	Ser	Gln	Asp	Ala	Phe	Lys	
	65					70				75					80		
10	ctc	aag	ccc	ctc	ttc	atc	ctc	cac	aac	ttc	ctc	ctg	acg	atc	gcg	tcc	288
	Leu	Lys	Pro	Leu	Phe	Ile	Leu	His	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ile	Ala	Ser	
				85						90					95		
15	gga	tcg	ctg	ttg	ctc	ctg	ttc	atc	gag	aac	ctg	gtc	ccc	atc	ctc	gcc	336
	Gly	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Ile	Glu	Asn	Leu	Val	Pro	Ile	Leu	Ala	
				100					105					110			
20	aga	aac	gga	ctt	ttc	tac	gcc	atc	tgc	gac	gac	ggg	gcc	tgg	acc	cag	384
	Arg	Asn	Gly	Leu	Phe	Tyr	Ala	Ile	Cys	Asp	Asp	Gly	Ala	Trp	Thr	Gln	
			115					120					125				
	cgc	ctc	gag	ctc	ctc	tac	tac	ctc	aac	tac	ctg	gtc	aag	tac	tgg	gag	432
	Arg	Leu	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Leu	Val	Lys	Tyr	Trp	Glu	
				130				135					140				
25	ttg	gcc	gac	acc	gtc	ttt	ttg	gtc	ctc	aag	aag	aag	cct	ctt	gag	ttc	480
	Leu	Ala	Asp	Thr	Val	Phe	Leu	Val	Leu	Lys	Lys	Lys	Pro	Leu	Glu	Phe	
					150					155					160		
30	ctg	cac	tac	ttc	cac	cac	tgc	atg	acc	atg	gtt	ctc	tgc	ttt	gtc	cag	528
	Leu	His	Tyr	Phe	His	His	Ser	Met	Thr	Met	Val	Leu	Cys	Phe	Val	Gln	
					165					170					175		
35	ctt	gga	gga	tac	act	tca	gtg	tcc	tgg	gtc	cct	att	acc	ctc	aac	ttg	576
	Leu	Gly	Gly	Tyr	Thr	Ser	Val	Ser	Trp	Val	Pro	Ile	Thr	Leu	Asn	Leu	
				180					185					190			
40	act	gtc	cac	gtc	ttc	atg	tac	tac	tac	tac	atg	cgc	tcc	gct	gcc	ggg	624
	Thr	Val	His	Val	Phe	Met	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Met	Arg	Ser	Ala	Ala	Gly	
			195					200					205				
	gtt	cgc	atc	tgg	tgg	aag	cag	tac	ttg	acc	act	ctc	cag	atc	gtc	cag	672
	Val	Arg	Ile	Trp	Trp	Lys	Gln	Tyr	Leu	Thr	Thr	Leu	Gln	Ile	Val	Gln	
				210			215						220				
45	ttc	gtt	ctt	gac	ctc	gga	ttc	atc	tac	ttc	tgc	gcc	tac	acc	tac	ttc	720
	Phe	Val	Leu	Asp	Leu	Gly	Phe	Ile	Tyr	Phe	Cys	Ala	Tyr	Thr	Tyr	Phe	
						230					235				240		
50	gcc	ttc	acc	tac	ttc	ccc	tgg	gct	ccc	aac	gtc	ggc	aag	tgc	gcc	ggg	768
	Ala	Phe	Thr	Tyr	Phe	Pro	Trp	Ala	Pro	Asn	Val	Gly	Lys	Cys	Ala	Gly	
					245					250					255		
55	acc	gag	ggg	gct	gct	ctc	ttt	ggc	tgc	gga	ctc	ctc	tcc	agc	tat	ctc	816
	Thr	Glu	Gly	Ala	Ala	Leu	Phe	Gly	Cys	Gly	Leu	Leu	Ser	Ser	Tyr	Leu	
				260					265					270			
60	ttg	ctc	ttt	atc	aac	ttc	tac	cgc	att	acc	tac	aat	gcc	aag	gcc	aag	864
	Leu	Leu	Phe	Ile	Asn	Phe	Tyr	Arg	Ile	Thr	Tyr	Asn	Ala	Lys	Ala	Lys	
				275				280					285				
	gca	gcc	aag	gag	cgt	gga	agc	aac	ttt	acc	ccc	aag	act	gtc	aag	tcc	912
	Ala	Ala	Lys	Glu	Arg	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Pro	Lys	Thr	Val	Lys	Ser	
				290			295					300					
65	ggc	gga	tcg	ccc	aag	aag	ccc	tcc	aag	agc	aag	cac	atc	taa			954
	Gly	Gly	Ser	Pro	Lys	Lys	Pro	Ser	Lys	Ser	Lys	His	Ile				
						310					315						
70	<210>	34															
	<211>	317															

57

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

5

<400> 34

10 Met Ala Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro
1 5 10 15

15 Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val
20 25 30

20 Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro
35 40 45

25 Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val
50 55 60

30 Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys
65 70 75 80

35 Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser
85 90 95

40 Gly Ser Leu Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala
100 105 110

45 Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln
115 120 125

50 Arg Leu Glu Leu Leu Tyr Tyr Leu Asn Tyr Leu Val Lys Tyr Trp Glu
130 135 140

55 Leu Ala Asp Thr Val Phe Leu Val Leu Lys Lys Lys Pro Leu Glu Phe
145 150 155 160

60 Leu His Tyr Phe His His Ser Met Thr Met Val Leu Cys Phe Val Gln
165 170 175

65 Leu Gly Gly Tyr Thr Ser Val Ser Trp Val Pro Ile Thr Leu Asn Leu
180 185 190

70 Thr Val His Val Phe Met Tyr Tyr Tyr Tyr Met Arg Ser Ala Ala Gly
195 200 205

75 Val Arg Ile Trp Trp Lys Gln Tyr Leu Thr Thr Leu Gln Ile Val Gln
210 215 220

80 Phe Val Leu Asp Leu Gly Phe Ile Tyr Phe Cys Ala Tyr Thr Tyr Phe
225 230 235 240

85 Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Trp Ala Pro Asn Val Gly Lys Cys Ala Gly
245 250 255

Thr Glu Gly Ala Ala Leu Phe Gly Cys Gly Leu Leu Ser Ser Tyr Leu

58

	260	265	270	
5	Leu Leu Phe Ile Asn Phe Tyr Arg Ile Thr Tyr Asn Ala Lys Ala Lys 275 280 285			
10	Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser 290 295 300			
15	Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile 305 310 315			
	<210> 35			
	<211> 957			
20	<212> DNA			
	<213> Mortierella alpina			
25	<220>			
	<221> CDS			
30	<222> (1)..(957)			
	<223> Delta-6-Elongase			
35	<400> 35			
	atg gag tcg att gcg cca ttc ctc cca tca aag atg ccg caa gat ctg 48 Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu 1 5 10 15			
40	ttt atg gac ctt gcc acc gct atc ggt gtc cgg gcc gcg ccc tat gtc 96 Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val 20 25 30			
45	gat cct ctc gag gcc gcg ctg gtg gcc cag gcc gag aag tac atc ccc 144 Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro 35 40 45			
50	acg att gtc cat cac acg cgt ggg ttc ctg gtc gcg gtg gag tcg cct 192 Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro 50 55 60			
55	ttg gcc cgt gag ctg ccg ttg atg aac ccg ttc cac gtg ctg ttg atc 240 Leu Ala Arg Glu Leu Pro Leu Met Asn Pro Phe His Val Leu Leu Ile 65 70 75 80			
60	gtg ctc gct tat ttg gtc acg gtc ttt gtg ggc atg cag atc atg aag 288 Val Leu Ala Tyr Leu Val Thr Val Phe Val Gly Met Gln Ile Met Lys 85 90 95			
	aac ttt gag cgg ttc gag gtc aag acg ttt tcg ctc ctg cac aac ttt 336 Asn Phe Glu Arg Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe 100 105 110			
65	tgt ctg gtc tcg atc agc gcc tac atg tgc ggt ggg atc ctg tac gag 384 Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu 115 120 125			
70	gct tat cag gcc aac tat gga ctg ttt gag aac gct gct gat cat acc 432 Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr 130 135 140			
	ttc aag ggt ctt cct atg gcc aag atg atc tgg ctc ttc tac ttc tcc 480			

59

	Phe	Lys	Gly	Leu	Pro	Met	Ala	Lys	Met	Ile	Trp	Leu	Phe	Tyr	Phe	Ser	
	145					150					155					160	
5	aag	atc	atg	gag	ttt	gtc	gac	acc	atg	atc	atg	gtc	ctc	aag	aag	aac	528
	Lys	Ile	Met	Glu	Phe	Val	Asp	Thr	Met	Ile	Met	Val	Leu	Lys	Lys	Asn	
					165					170					175		
10	aac	cgc	cag	atc	tcc	ttc	ttg	cac	gtt	tac	cac	cac	agc	tcc	atc	ttc	576
	Asn	Arg	Gln	Ile	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	His	His	Ser	Ser	Ile	Phe	
				180					185					190			
15	acc	atc	tgg	tgg	ttg	gtc	acc	ttt	gtt	gca	ccc	aac	ggt	gaa	gcc	tac	624
	Thr	Ile	Trp	Trp	Leu	Val	Thr	Phe	Val	Ala	Pro	Asn	Gly	Glu	Ala	Tyr	
			195					200					205				
20	ttc	tct	gct	gcg	ttg	aac	tcg	ttc	atc	cat	gtg	atc	atg	tac	ggc	tac	672
	Phe	Ser	Ala	Ala	Leu	Asn	Ser	Phe	Ile	His	Val	Ile	Met	Tyr	Gly	Tyr	
		210					215					220					
25	tac	ttc	ttg	tcg	gcc	ttg	ggc	ttc	aag	cag	gtg	tcg	ttc	atc	aag	ttc	720
	Tyr	Phe	Leu	Ser	Ala	Leu	Gly	Phe	Lys	Gln	Val	Ser	Phe	Ile	Lys	Phe	
					230					235						240	
30	tac	atc	acg	cgc	tcg	cag	atg	aca	cag	ttc	tgc	atg	atg	tcg	gtc	cag	768
	Tyr	Ile	Thr	Arg	Ser	Gln	Met	Thr	Gln	Phe	Cys	Met	Met	Ser	Val	Gln	
					245					250					255		
35	tct	tcc	tgg	gac	atg	tac	gcc	atg	aag	gtc	ctt	ggc	cgc	ccc	gga	tac	816
	Ser	Ser	Trp	Asp	Met	Tyr	Ala	Met	Lys	Val	Leu	Gly	Arg	Pro	Gly	Tyr	
				260					265					270			
40	ccc	ttc	ttc	atc	acg	gct	ctg	ctt	tgg	ttc	tac	atg	tgg	acc	atg	ctc	864
	Pro	Phe	Phe	Ile	Thr	Ala	Leu	Leu	Trp	Phe	Tyr	Met	Trp	Thr	Met	Leu	
			275					280					285				
45	ggt	ctc	ttc	tac	aac	ttt	tac	aga	aag	aac	gcc	aag	ttg	gcc	aag	cag	912
	Gly	Leu	Phe	Tyr	Asn	Phe	Tyr	Arg	Lys	Asn	Ala	Lys	Leu	Ala	Lys	Gln	
		290					295				300						
50	gcc	aag	gcc	gac	gct	gcc	aag	gag	aag	gca	agg	aag	ttg	cag	taa		957
	Ala	Lys	Ala	Asp	Ala	Ala	Lys	Glu	Lys	Ala	Arg	Lys	Leu	Gln			
					310					315							
55	<210>	36															
60	<211>	318															
65	<212>	PRT															
70	<213>	Mortierella alpina															
75	<400>	36															
80	Met	Glu	Ser	Ile	Ala	Pro	Phe	Leu	Pro	Ser	Lys	Met	Pro	Gln	Asp	Leu	
	1				5					10					15		
85	Phe	Met	Asp	Leu	Ala	Thr	Ala	Ile	Gly	Val	Arg	Ala	Ala	Pro	Tyr	Val	
				20					25					30			
90	Asp	Pro	Leu	Glu	Ala	Ala	Leu	Val	Ala	Gln	Ala	Glu	Lys	Tyr	Ile	Pro	
			35					40					45				
95	Thr	Ile	Val	His	His	Thr	Arg	Gly	Phe	Leu	Val	Ala	Val	Glu	Ser	Pro	
		50					55					60					
100	Leu	Ala	Arg	Glu	Leu	Pro	Leu	Met	Asn	Pro	Phe	His	Val	Leu	Leu	Ile	

60

	65	70	75	80
5	Val Leu Ala Tyr	Leu Val Thr Val Phe	Val Gly Met Gln Ile Met Lys	
		85	90	95
10	Asn Phe Glu Arg	Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe		
		100	105	110
15	Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu			
		115	120	125
20	Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr			
		130	135	140
25	Phe Lys Gly Leu Pro Met Ala Lys Met Ile Trp Leu Phe Tyr Phe Ser			
		145	150	155
30	Lys Ile Met Glu Phe Val Asp Thr Met Ile Met Val Leu Lys Lys Asn			
		165	170	175
35	Asn Arg Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Phe			
		180	185	190
40	Thr Ile Trp Trp Leu Val Thr Phe Val Ala Pro Asn Gly Glu Ala Tyr			
		195	200	205
45	Phe Ser Ala Ala Leu Asn Ser Phe Ile His Val Ile Met Tyr Gly Tyr			
		210	215	220
50	Tyr Phe Leu Ser Ala Leu Gly Phe Lys Gln Val Ser Phe Ile Lys Phe			
		225	230	235
55	Tyr Ile Thr Arg Ser Gln Met Thr Gln Phe Cys Met Met Ser Val Gln			
		245	250	255
60	Ser Ser Trp Asp Met Tyr Ala Met Lys Val Leu Gly Arg Pro Gly Tyr			
		260	265	270
65	Pro Phe Phe Ile Thr Ala Leu Leu Trp Phe Tyr Met Trp Thr Met Leu			
		275	280	285
70	Gly Leu Phe Tyr Asn Phe Tyr Arg Lys Asn Ala Lys Leu Ala Lys Gln			
		290	295	300
75	Ala Lys Ala Asp Ala Ala Lys Glu Lys Ala Arg Lys Leu Gln			
		305	310	315
80	<210> 37			
85	<211> 867			
90	<212> DNA			
95	<213> Caenorhabditis elegans			

61

<220>

<221> CDS

5 <222> (1)..(867)

<223> Delta-6-Elongase

10

<400> 37

atg gct cag cat ccg ctc gtt caa cgg ctt ctc gat gtc aaa ttc gac	48
Met Ala Gln His Pro Leu Val Gln Arg Leu Leu Asp Val Lys Phe Asp	
1 5 10 15	

15

acg aaa cga ttt gtg gct att gct act cat ggg cca aag aat ttc cct	96
Thr Lys Arg Phe Val Ala Ile Ala Thr His Gly Pro Lys Asn Phe Pro	
20 25 30	

20

gac gca gaa ggt cgc aag ttc ttt gct gat cac ttt gat gtt act att	144
Asp Ala Glu Gly Arg Lys Phe Phe Ala Asp His Phe Asp Val Thr Ile	
35 40 45	

25

cag gct tca atc ctg tac atg gtc gtt gtg ttc gga aca aaa tgg ttc	192
Gln Ala Ser Ile Leu Tyr Met Val Val Val Phe Gly Thr Lys Trp Phe	
50 55 60	

30

atg cgt aat cgt caa cca ttc caa ttg act att cca ctc aac atc tgg	240
Met Arg Asn Arg Gln Pro Phe Phe Gln Leu Thr Ile Pro Leu Asn Ile Trp	
65 70 75 80	

35

aat ttc atc ctc gcc gca ttt tcc atc gca gga gct gtc aaa atg acc	288
Asn Phe Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Gly Ala Val Lys Met Thr	
85 90 95	

40

cca gag ttc ttt gga acc att gcc aac aaa gga att gtc gca tcc tac	336
Pro Glu Phe Phe Gly Thr Ile Ala Asn Lys Gly Ile Val Ala Ser Tyr	
100 105 110	

45

tgc aaa gtg ttt gat ttc acg aaa gga gag aat gga tac tgg gtg tgg	384
Cys Lys Val Phe Asp Phe Thr Lys Gly Glu Asn Gly Tyr Trp Val Trp	
115 120 125	

50

ctc ttc atg gct tcc aaa ctt ttc gaa ctt gtt gac acc atc ttc ttg	432
Leu Phe Met Ala Ser Lys Leu Phe Glu Leu Val Asp Thr Ile Phe Leu	
130 135 140	

55

gtt ctc cgt aaa cgt cca ctc atg ttc ctt cac tgg tat cac cat att	480
Val Leu Arg Lys Arg Pro Leu Met Phe Leu His Trp Tyr His His Ile	
145 150 155 160	

60

ctc acc atg atc tac gcc tgg tac tct cat cca ttg acc cca gga ttc	528
Leu Thr Met Ile Tyr Ala Trp Tyr Ser His Pro Leu Thr Pro Gly Phe	
165 170 175	

65

aac aga tac gga att tat ctt aac ttt gtc gtc cac gcc ttc atg tac	576
Asn Arg Tyr Gly Ile Tyr Leu Asn Phe Val Val His Ala Phe Met Tyr	
180 185 190	

70

tct tac tac ttc ctt cgc tgc atg aag att cgc gtg cca gga ttc atc	624
Ser Tyr Tyr Phe Leu Arg Ser Met Lys Ile Arg Val Pro Gly Phe Ile	
195 200 205	

gcc caa gct atc aca tct ctt caa atc gtt caa ttc atc atc tct tgc	672
Ala Gln Ala Ile Thr Ser Leu Gln Ile Val Gln Phe Ile Ile Ser Cys	
210 215 220	

gcc gtt ctt gct cat ctt ggt tat ctc atg cac ttc acc aat gcc aac	720
Ala Val Leu Ala His Leu Gly Tyr Leu Met His Phe Thr Asn Ala Asn	
225 230 235 240	

tgt gat ttc gag cca tca gta ttc aag ctc gca gtt ttc atg gac aca	768
Cys Asp Phe Glu Pro Ser Val Phe Lys Leu Ala Val Phe Met Asp Thr	

62

	245	250	255		
5	aca tac ttg gct ctt ttc gtc aac ttc ttc ctc caa tca tat gtt ctc Thr Tyr Leu Ala Leu Phe Val Asn Phe Phe Leu Gln Ser Tyr Val Leu	260	265	270	816
10	cgc gga gga aaa gac aag tac aag gca gtg cca aag aag aag aac aac Arg Gly Gly Lys Asp Lys Tyr Lys Ala Val Pro Lys Lys Lys Asn Asn	275	280	285	864
15	taa				867
20	<210> 38 <211> 288 <212> PRT <213> Caenorhabditis elegans				
25	<400> 38 Met Ala Gln His Pro Leu Val Gln Arg Leu Leu Asp Val Lys Phe Asp 1 5 10 15				
30	Thr Lys Arg Phe Val Ala Ile Ala Thr His Gly Pro Lys Asn Phe Pro 20 25 30				
35	Asp Ala Glu Gly Arg Lys Phe Phe Ala Asp His Phe Asp Val Thr Ile 35 40 45				
40	Gln Ala Ser Ile Leu Tyr Met Val Val Val Phe Gly Thr Lys Trp Phe 50 55 60				
45	Met Arg Asn Arg Gln Pro Phe Gln Leu Thr Ile Pro Leu Asn Ile Trp 65 70 75 80				
50	Asn Phe Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Gly Ala Val Lys Met Thr 85 90 95				
55	Pro Glu Phe Phe Gly Thr Ile Ala Asn Lys Gly Ile Val Ala Ser Tyr 100 105 110				
60	Cys Lys Val Phe Asp Phe Thr Lys Gly Glu Asn Gly Tyr Trp Val Trp 115 120 125				
65	Leu Phe Met Ala Ser Lys Leu Phe Glu Leu Val Asp Thr Ile Phe Leu 130 135 140				
70	Val Leu Arg Lys Arg Pro Leu Met Phe Leu His Trp Tyr His His Ile 145 150 155 160				
	Leu Thr Met Ile Tyr Ala Trp Tyr Ser His Pro Leu Thr Pro Gly Phe 165 170 175				
	Asn Arg Tyr Gly Ile Tyr Leu Asn Phe Val Val His Ala Phe Met Tyr 180 185 190				

63

Ser Tyr Tyr Phe Leu Arg Ser Met Lys Ile Arg Val Pro Gly Phe Ile
 195 200 205

5 Ala Gln Ala Ile Thr Ser Leu Gln Ile Val Gln Phe Ile Ile Ser Cys
 210 215 220

10 Ala Val Leu Ala His Leu Gly Tyr Leu Met His Phe Thr Asn Ala Asn
 225 230 235 240

15 Cys Asp Phe Glu Pro Ser Val Phe Lys Leu Ala Val Phe Met Asp Thr
 245 250 255

20 Thr Tyr Leu Ala Leu Phe Val Asn Phe Phe Leu Gln Ser Tyr Val Leu
 260 265 270

Arg Gly Gly Lys Asp Lys Tyr Lys Ala Val Pro Lys Lys Lys Asn Asn
 275 280 285

25 <210> 39
 <211> 1626
 <212> DNA

30 <213> *Euglena gracilis*

35 <220>
 <221> CDS

40 <222> (1)..(1626)
 <223> Delta-4-Desaturase

45 <400> 39
 atg ttg gtg ctg ttt ggc aat ttc tat gtc aag caa tac tcc caa aag 48
 Met Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Lys Gln Tyr Ser Gln Lys
 1 5 10 15

50 aac ggc aag ccg gag aac gga gcc acc cct gag aac gga gcg aag ccg 96
 Asn Gly Lys Pro Glu Asn Gly Ala Thr Pro Glu Asn Gly Ala Lys Pro
 20 25 30

55 caa cct tgc gag aac ggc acg gtg gaa aag cga gag aat gac acc gcc 144
 Gln Pro Cys Glu Asn Gly Thr Val Glu Lys Arg Glu Asn Asp Thr Ala
 35 40 45

60 aac gtt cgg ccc acc cgt cca gct gga ccc ccg ccg gcc acg tac tac 192
 Asn Val Arg Pro Thr Arg Pro Ala Gly Pro Pro Ala Thr Tyr Tyr
 50 55 60

65 gac tcc ctg gca gtg tgc ggg cag ggc aag gag ccg ctg ttc acc acc 240
 Asp Ser Leu Ala Val Ser Gly Gln Gly Lys Glu Arg Leu Phe Thr Thr
 65 70 75 80

gat gag gtg agg ccg cac atc ctc ccc acc gat ggc tgg ctg acg tgc 288
 Asp Glu Val Arg Arg His Ile Leu Pro Thr Asp Gly Trp Leu Thr Cys
 85 90 95

70 cac gaa gga gtc tac gat gtc act gat ttc ctt gcc aag cac cct ggt 336
 His Glu Gly Val Tyr Asp Val Thr Asp Phe Leu Ala Lys His Pro Gly
 100 105 110

64

	ggc ggt gtc atc acg ctg ggc ctt gga agg gac tgc aca atc ctc atc	384
	Gly Gly Val Ile Thr Leu Gly Leu Gly Arg Asp Cys Thr Ile Leu Ile	
	115 120 125	
5	gag tca tac cac cct gct ggg cgc ccg gac aag gtg atg gag aag tac	432
	Glu Ser Tyr His Pro Ala Gly Arg Pro Asp Lys Val Met Glu Lys Tyr	
	130 135 140	
10	cgc att ggt acg ctg cag gac ccc aag acg ttc tat gct tgg gga gag	480
	Arg Ile Gly Thr Leu Gln Asp Pro Lys Thr Phe Tyr Ala Trp Gly Glu	
	145 150 155 160	
15	tcc gat ttc tac cct gag ttg aag cgc cgg gcc ctt gca agg ctg aag	528
	Ser Asp Phe Tyr Pro Glu Leu Lys Arg Arg Ala Leu Ala Arg Leu Lys	
	165 170 175	
20	gag gct ggt cag gcg cgg cgc ggc ggc ctt ggg gtg aag gcc ctc ctg	576
	Glu Ala Gly Gln Ala Arg Arg Gly Gly Leu Gly Val Lys Ala Leu Leu	
	180 185 190	
25	gtg ctc acc ctc ttc ttc gtg tgc tgg tac atg tgg gtg gcc cac aag	624
	Val Leu Thr Leu Phe Phe Val Ser Trp Tyr Met Trp Val Ala His Lys	
	195 200 205	
30	tcc ttc ctc tgg gcc gcc gtc tgg ggc ttc gcc ggc tcc cac gtc ggg	672
	Ser Phe Leu Trp Ala Ala Val Trp Gly Phe Ala Gly Ser His Val Gly	
	210 215 220	
35	ctg agc atc cag cac gat ggc aac cac ggc gcg ttc agc cgc aac aca	720
	Leu Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly Ala Phe Ser Arg Asn Thr	
	225 230 235 240	
40	ctg gtg aac cgc ctg gcg ggg tgg ggc atg gac ttg atc ggc gcg tgc	768
	Leu Val Asn Arg Leu Ala Gly Trp Gly Met Asp Leu Ile Gly Ala Ser	
	245 250 255	
45	tcc acg gtg tgg gag tac cag cac gtc atc ggc cac cac cag tac acc	816
	Ser Thr Val Trp Glu Tyr Gln His Val Ile Gly His His Gln Tyr Thr	
	260 265 270	
50	aac ctc gtg tgc gac acg cta ttc agt ctg cct gag aac gat ccg gac	864
	Asn Leu Val Ser Asp Thr Leu Phe Ser Leu Pro Glu Asn Asp Pro Asp	
	275 280 285	
55	gtc ttc tcc agc tac ccg ctg atg cgc atg cac ccg gat acg gcg tgg	912
	Val Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Met Arg Met His Pro Asp Thr Ala Trp	
	290 295 300	
60	cag ccg cac cac cgc ttc cag cac ctg ttc gcg ttc cca ctg ttc gcc	960
	Gln Pro His His Arg Phe Gln His Leu Phe Ala Phe Pro Leu Phe Ala	
	305 310 315 320	
65	ctg atg aca atc agc aag gtg ctg acc agc gat ttc gct gtc tgc ctc	1008
	Leu Met Thr Ile Ser Lys Val Leu Thr Ser Asp Phe Ala Val Cys Leu	
	325 330 335	
70	agc atg aag aag ggg tcc atc gac tgc tcc tcc agg ctc gtc cca ctg	1056
	Ser Met Lys Lys Gly Ser Ile Asp Cys Ser Ser Arg Leu Val Pro Leu	
	340 345 350	
75	gag ggg cag ctg ctg ttc tgg ggg gcc aag ctg gcg aac ttc ctg ttg	1104
	Glu Gly Gln Leu Leu Phe Trp Gly Ala Lys Leu Ala Asn Phe Leu Leu	
	355 360 365	
80	cag att gtg ttg cca tgc tac ctc cac ggg aca gct atg ggc ctg gcc	1152
	Gln Ile Val Leu Pro Cys Tyr Leu His Gly Thr Ala Met Gly Leu Ala	
	370 375 380	
85	ctc ttc tct gtt gct cac ctt gtg tgc ggg gag tac ctc gcg atc tgc	1200
	Leu Phe Ser Val Ala His Leu Val Ser Gly Glu Tyr Leu Ala Ile Cys	
	385 390 395 400	
90	ttc atc atc aac cac atc agc gag tct tgt gag ttt atg aat aca agc	1248

65

	Phe	Ile	Ile	Asn	His	Ile	Ser	Glu	Ser	Cys	Glu	Phe	Met	Asn	Thr	Ser	
					405					410					415		
5	ttt	caa	acc	gcc	gcc	cgg	agg	aca	gag	atg	ctt	cag	gca	gca	cat	cag	1296
	Phe	Gln	Thr	Ala	Ala	Arg	Arg	Thr	Glu	Met	Leu	Gln	Ala	Ala	His	Gln	
				420					425				430				
10	gca	gcg	gag	gcc	aag	aag	gtg	aag	ccc	acc	cct	cca	ccg	aac	gat	tgg	1344
	Ala	Ala	Glu	Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Pro	Thr	Pro	Pro	Pro	Asn	Asp	Trp	
			435					440					445				
15	gct	gtg	aca	cag	gtc	caa	tgc	tgc	gtg	aat	tgg	aga	tca	ggg	ggc	gtg	1392
	Ala	Val	Thr	Gln	Val	Gln	Cys	Cys	Val	Asn	Trp	Arg	Ser	Gly	Gly	Val	
		450					455					460					
20	ttg	gcc	aat	cac	ctc	tct	gga	ggc	ttg	aac	cac	cag	atc	gag	cat	cat	1440
	Leu	Ala	Asn	His	Leu	Ser	Gly	Gly	Leu	Asn	His	Gln	Ile	Glu	His	His	
	465					470				475					480		
25	ctg	ttc	ccc	agc	atc	tcg	cat	gcc	aac	tac	ccc	acc	atc	gcc	cct	gtt	1488
	Leu	Phe	Pro	Ser	Ile	Ser	His	Ala	Asn	Tyr	Pro	Thr	Ile	Ala	Pro	Val	
				485						490					495		
30	gtg	aag	gag	gtg	tgc	gag	gag	tac	ggg	ttg	ccg	tac	aag	aat	tac	gtc	1536
	Val	Lys	Glu	Val	Cys	Glu	Glu	Tyr	Gly	Leu	Pro	Tyr	Lys	Asn	Tyr	Val	
				500					505					510			
35	acg	ttc	tgg	gat	gca	gtc	tgt	ggc	atg	gtt	cag	cac	ctc	cgg	ttg	atg	1584
	Thr	Phe	Trp	Asp	Ala	Val	Cys	Gly	Met	Val	Gln	His	Leu	Arg	Leu	Met	
			515					520					525				
40	ggt	gct	cca	ccg	gtg	cca	acg	aac	ggg	gac	aaa	aag	tca	taa			1626
	Gly	Ala	Pro	Pro	Val	Pro	Thr	Asn	Gly	Asp	Lys	Lys	Ser				
		530					535					540					
45	<210>	40															
50	<211>	541															
	<212>	PRT															
	<213>	Euglena gracilis															
55	<400>	40															
60	Met	Leu	Val	Leu	Phe	Gly	Asn	Phe	Tyr	Val	Lys	Gln	Tyr	Ser	Gln	Lys	
	1				5					10					15		
65	Asn	Gly	Lys	Pro	Glu	Asn	Gly	Ala	Thr	Pro	Glu	Asn	Gly	Ala	Lys	Pro	
				20					25					30			
70	Gln	Pro	Cys	Glu	Asn	Gly	Thr	Val	Glu	Lys	Arg	Glu	Asn	Asp	Thr	Ala	
			35					40					45				
75	Asn	Val	Arg	Pro	Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Pro	Pro	Pro	Ala	Thr	Tyr	Tyr	
		50					55					60					
80	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Gly	Gln	Gly	Lys	Glu	Arg	Leu	Phe	Thr	Thr	
	65					70					75					80	
85	Asp	Glu	Val	Arg	Arg	His	Ile	Leu	Pro	Thr	Asp	Gly	Trp	Leu	Thr	Cys	
					85					90					95		
90	His	Glu	Gly	Val	Tyr	Asp	Val	Thr	Asp	Phe	Leu	Ala	Lys	His	Pro	Gly	

66

	100	105	110
5	Gly Gly Val Ile Thr Leu Gly Leu Gly Arg Asp Cys Thr Ile Leu Ile 115 120 125		
10	Glu Ser Tyr His Pro Ala Gly Arg Pro Asp Lys Val Met Glu Lys Tyr 130 135 140		
15	Arg Ile Gly Thr Leu Gln Asp Pro Lys Thr Phe Tyr Ala Trp Gly Glu 145 150 155 160		
20	Ser Asp Phe Tyr Pro Glu Leu Lys Arg Arg Ala Leu Ala Arg Leu Lys 165 170 175		
25	Glu Ala Gly Gln Ala Arg Arg Gly Gly Leu Gly Val Lys Ala Leu Leu 180 185 190		
30	Val Leu Thr Leu Phe Phe Val Ser Trp Tyr Met Trp Val Ala His Lys 195 200 205		
35	Ser Phe Leu Trp Ala Ala Val Trp Gly Phe Ala Gly Ser His Val Gly 210 215 220		
40	Leu Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly Ala Phe Ser Arg Asn Thr 225 230 235 240		
45	Leu Val Asn Arg Leu Ala Gly Trp Gly Met Asp Leu Ile Gly Ala Ser 245 250 255		
50	Ser Thr Val Trp Glu Tyr Gln His Val Ile Gly His His Gln Tyr Thr 260 265 270		
55	Asn Leu Val Ser Asp Thr Leu Phe Ser Leu Pro Glu Asn Asp Pro Asp 275 280 285		
60	Val Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Met Arg Met His Pro Asp Thr Ala Trp 290 295 300		
65	Gln Pro His His Arg Phe Gln His Leu Phe Ala Phe Pro Leu Phe Ala 305 310 315 320		
70	Leu Met Thr Ile Ser Lys Val Leu Thr Ser Asp Phe Ala Val Cys Leu 325 330 335		
	Ser Met Lys Lys Gly Ser Ile Asp Cys Ser Ser Arg Leu Val Pro Leu 340 345 350		
	Glu Gly Gln Leu Leu Phe Trp Gly Ala Lys Leu Ala Asn Phe Leu Leu 355 360 365		
	Gln Ile Val Leu Pro Cys Tyr Leu His Gly Thr Ala Met Gly Leu Ala 370 375 380		
	Leu Phe Ser Val Ala His Leu Val Ser Gly Glu Tyr Leu Ala Ile Cys 385 390 395 400		

67

5 Phe Ile Ile Asn His Ile Ser Glu Ser Cys Glu Phe Met Asn Thr Ser
 405 410 415
 10 Phe Gln Thr Ala Ala Arg Arg Thr Glu Met Leu Gln Ala Ala His Gln
 420 425 430
 15 Ala Ala Glu Ala Lys Lys Val Lys Pro Thr Pro Pro Pro Asn Asp Trp
 435 440 445
 20 Ala Val Thr Gln Val Gln Cys Cys Val Asn Trp Arg Ser Gly Gly Val
 450 455 460
 25 Leu Ala Asn His Leu Ser Gly Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His
 465 470 475 480
 30 Leu Phe Pro Ser Ile Ser His Ala Asn Tyr Pro Thr Ile Ala Pro Val
 485 490 495
 35 Val Lys Glu Val Cys Glu Glu Tyr Gly Leu Pro Tyr Lys Asn Tyr Val
 500 505 510
 40 Thr Phe Trp Asp Ala Val Cys Gly Met Val Gln His Leu Arg Leu Met
 515 520 525
 45 Gly Ala Pro Pro Val Pro Thr Asn Gly Asp Lys Lys Ser
 530 535 540
 50 <210> 41
 <211> 1548
 <212> DNA
 55 <213> Thraustochytrium
 60 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1548)
 65 <223> Delta-4-Desaturase
 70 <400> 41
 atg acg gtc ggg ttt gac gaa acg gtg act atg gac acg gtc cgc aac 48
 Met Thr Val Gly Phe Asp Glu Thr Val Thr Met Asp Thr Val Arg Asn
 1 5 10 15
 65 cac aac atg ccg gac gac gcc tgg tgc gcg atc cac ggc acc gtg tac 96
 His Asn Met Pro Asp Asp Ala Trp Cys Ala Ile His Gly Thr Val Tyr
 20 25 30
 70 gac atc acc aag ttc agc aag gtg cac ccc ggc ggg gac atc atc atg 144
 Asp Ile Thr Lys Phe Ser Lys Val His Pro Gly Gly Asp Ile Ile Met
 35 40 45
 ctg gcc gct ggc aag gag gcc acc atc ctg ttc gag acc tac cac atc 192
 Leu Ala Ala Gly Lys Glu Ala Thr Ile Leu Phe Glu Thr Tyr His Ile

68

	50	55	60	
5	aag ggc gtc ccg gac gcg gtg ctg cgc aag tac aag gtc ggc aag ctc Lys Gly Val Pro Asp Ala Val Leu Arg Lys Tyr Lys Val Gly Lys Leu 65 70 75 80			240
10	ccc cag ggc aag aag ggc gaa acg agc cac atg ccc acc ggg ctc gac Pro Gln Gly Lys Lys Gly Glu Thr Ser His Met Pro Thr Gly Leu Asp 85 90 95			288
15	tcg gcc tcc tac tac tcg tgg gac agc gag ttt tac agg gtg ctc cgc Ser Ala Ser Tyr Ser Trp Asp Ser Glu Phe Tyr Arg Val Leu Arg 100 105 110			336
20	gag cgc gtc gcc aag aag ctg gcc gag ccc ggc ctc atg cag cgc gcg Glu Arg Val Ala Lys Lys Leu Ala Glu Pro Gly Leu Met Gln Arg Ala 115 120 125			384
25	cgc atg gag ctc tgg gcc aag gcg atc ttc ctc ctg gca ggt ttc tgg Arg Met Glu Leu Trp Ala Lys Ala Ile Phe Leu Leu Ala Gly Phe Trp 130 135 140			432
30	ggc tcc ctt tac gcc atg tgc gtg cta gac ccg cac ggc ggt gcc atg Gly Ser Leu Tyr Ala Met Cys Val Leu Asp Pro His Gly Gly Ala Met 145 150 155 160			480
35	gta gcc gcc gtt acg ctc ggc gtg ttc gct gcc ttt gtc gga act tgc Val Ala Ala Val Thr Leu Gly Val Phe Ala Ala Phe Val Gly Thr Cys 165 170 175			528
40	atc cag cac gac ggc agc cac ggc gcc ttc tcc aag tcg cga ttc atg Ile Gln His Asp Gly Ser His Gly Ala Phe Ser Lys Ser Arg Phe Met 180 185 190			576
45	aac aag gcg gcg ggc tgg acc ctc gac atg atc ggc gcg agt gcg atg Asn Lys Ala Ala Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Met 195 200 205			624
50	acc tgg gag atg cag cac gtt ctt ggc cac cac ccg tac acc aac ctc Thr Trp Glu Met Gln His Val Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Leu 210 215 220			672
55	atc gag atg gag aac ggt ttg gcc aag gtc aag ggc gcc gac gtc gac Ile Glu Met Glu Asn Leu Ala Lys Val Lys Gly Ala Asp Val Asp 225 230 235 240			720
60	ccg aag aag gtc gac cag gag agc gac ccg gac gtc ttc agt acg tac Pro Lys Lys Val Asp Gln Glu Ser Asp Pro Asp Val Phe Ser Thr Tyr 245 250 255			768
65	ccg atg ctt cgc ctg cac ccg tgg cac cgc cag ccg ttt tac cac aag Pro Met Leu Arg Leu His Pro Trp His Arg Gln Arg Phe Tyr His Lys 260 265 270			816
70	ttc cag cac ctg tac gcc ccg ttt atc ttt ggg tct atg acg att aac Phe Gln His Leu Tyr Ala Pro Phe Ile Phe Gly Ser Met Thr Ile Asn 275 280 285			864
75	aag gtg att tcc cag gat gtc ggg gtt gtg ctg cgc aag cgc ctg ttc Lys Val Ile Ser Gln Asp Val Gly Val Val Leu Arg Lys Arg Leu Phe 290 295 300			912
80	cag atc gac gcc aac tgc cgg tat ggc agc ccc tgg tac gtg gcc cgc Gln Ile Asp Ala Asn Cys Arg Tyr Gly Ser Pro Trp Tyr Val Ala Arg 305 310 315 320			960
85	ttc tgg atc atg aag ctc ctc acc acg ctc tac atg gtg gcg ctt ccc Phe Trp Ile Met Lys Leu Leu Thr Thr Leu Tyr Met Val Ala Leu Pro 325 330 335			1008
90	atg tac atg cag ggg cct gct cag ggc ttg aag ctt ttc ttc atg gcc Met Tyr Met Gln Gly Pro Ala Gln Leu Lys Leu Phe Phe Met Ala 340 345 350			1056

69

	cac	ttc	acc	tgc	gga	gag	gtc	ctc	gcc	acc	atg	ttt	att	gtc	aac	cac	1104
	His	Phe	Thr	Cys	Gly	Glu	Val	Leu	Ala	Thr	Met	Phe	Ile	Val	Asn	His	
			355					360					365				
5	atc	atc	gag	ggc	gtc	agc	tac	gct	tcc	aag	gac	gcg	gtc	aag	ggc	gtc	1152
	Ile	Ile	Glu	Gly	Val	Ser	Tyr	Ala	Ser	Lys	Asp	Ala	Val	Lys	Gly	Val	
			370				375					380					
10	atg	gct	ccg	ccg	cgc	act	gtg	cac	ggc	gtc	acc	ccg	atg	cag	gtg	acg	1200
	Met	Ala	Pro	Pro	Arg	Thr	Val	His	Gly	Val	Thr	Pro	Met	Gln	Val	Thr	
						390					395					400	
15	caa	aag	gcg	ctc	agt	gcg	gcc	gag	tcg	gcc	aag	tcg	gac	gcc	gac	aag	1248
	Gln	Lys	Ala	Leu	Ser	Ala	Ala	Glu	Ser	Ala	Lys	Ser	Asp	Ala	Asp	Lys	
					405					410					415		
20	acg	acc	atg	atc	ccc	ctc	aac	gac	tgg	gcc	gct	gtg	cag	tgc	cag	acc	1296
	Thr	Thr	Met	Ile	Pro	Leu	Asn	Asp	Trp	Ala	Ala	Val	Gln	Cys	Gln	Thr	
				420					425					430			
25	tct	gtg	aac	tgg	gct	gtc	ggg	tcg	tgg	ttt	tgg	aac	cac	ttt	tcg	ggc	1344
	Ser	Val	Asn	Trp	Ala	Val	Gly	Ser	Trp	Phe	Trp	Asn	His	Phe	Ser	Gly	
				435				440					445				
30	ggc	ctc	aac	cac	cag	att	gag	cac	cac	tgc	ttc	ccc	caa	aac	ccc	cac	1392
	Gly	Leu	Asn	His	Gln	Ile	Glu	His	His	Cys	Phe	Pro	Gln	Asn	Pro	His	
							455					460					
35	acg	gtc	aac	gtc	tac	atc	tcg	ggc	atc	gtc	aag	gag	acc	tgc	gaa	gaa	1440
	Thr	Val	Asn	Val	Tyr	Ile	Ser	Gly	Ile	Val	Lys	Glu	Thr	Cys	Glu	Glu	
						470					475					480	
40	tac	ggc	gtg	ccg	tac	cag	gct	gag	atc	agc	ctc	ttc	tct	gcc	tat	ttc	1488
	Tyr	Gly	Val	Pro	Tyr	Gln	Ala	Glu	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Ala	Tyr	Phe	
					485					490					495		
45	aag	atg	ctg	tcg	cac	ctc	cgc	acg	ctc	ggc	aac	gag	gac	ctc	acg	gcc	1536
	Lys	Met	Leu	Ser	His	Leu	Arg	Thr	Leu	Gly	Asn	Glu	Asp	Leu	Thr	Ala	
				500					505					510			
50	tgg	tcc	acg	tga													1548
	Trp	Ser	Thr														
				515													
55	<210>	42															
60	<211>	515															
65	<212>	PRT															
70	<213>	Thraustochytrium															
75	<400>	42															
80	Met	Thr	Val	Gly	Phe	Asp	Glu	Thr	Val								

70

Lys Gly Val Pro Asp Ala Val Leu Arg Lys Tyr Lys Val Gly Lys Leu
 65 70 75 80
 5 Pro Gln Gly Lys Lys Gly Glu Thr Ser His Met Pro Thr Gly Leu Asp
 85 90 95
 10 Ser Ala Ser Tyr Tyr Ser Trp Asp Ser Glu Phe Tyr Arg Val Leu Arg
 100 105 110
 15 Glu Arg Val Ala Lys Lys Leu Ala Glu Pro Gly Leu Met Gln Arg Ala
 115 120 125
 20 Arg Met Glu Leu Trp Ala Lys Ala Ile Phe Leu Leu Ala Gly Phe Trp
 130 135 140
 Gly Ser Leu Tyr Ala Met Cys Val Leu Asp Pro His Gly Gly Ala Met
 145 150 155 160
 25 Val Ala Ala Val Thr Leu Gly Val Phe Ala Ala Phe Val Gly Thr Cys
 165 170 175
 30 Ile Gln His Asp Gly Ser His Gly Ala Phe Ser Lys Ser Arg Phe Met
 180 185 190
 35 Asn Lys Ala Ala Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Met
 195 200 205
 40 Thr Trp Glu Met Gln His Val Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Leu
 210 215 220
 Ile Glu Met Glu Asn Gly Leu Ala Lys Val Lys Gly Ala Asp Val Asp
 225 230 235 240
 45 Pro Lys Lys Val Asp Gln Glu Ser Asp Pro Asp Val Phe Ser Thr Tyr
 245 250 255
 50 Pro Met Leu Arg Leu His Pro Trp His Arg Gln Arg Phe Tyr His Lys
 260 265 270
 55 Phe Gln His Leu Tyr Ala Pro Phe Ile Phe Gly Ser Met Thr Ile Asn
 275 280 285
 Lys Val Ile Ser Gln Asp Val Gly Val Val Leu Arg Lys Arg Leu Phe
 290 295 300
 60 Gln Ile Asp Ala Asn Cys Arg Tyr Gly Ser Pro Trp Tyr Val Ala Arg
 305 310 315 320
 65 Phe Trp Ile Met Lys Leu Leu Thr Thr Leu Tyr Met Val Ala Leu Pro
 325 330 335
 70 Met Tyr Met Gln Gly Pro Ala Gln Gly Leu Lys Leu Phe Phe Met Ala
 340 345 350

71

His Phe Thr Cys Gly Glu Val Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His
 355 360 365

5 Ile Ile Glu Gly Val Ser Tyr Ala Ser Lys Asp Ala Val Lys Gly Val
 370 375 380

10 Met Ala Pro Pro Arg Thr Val His Gly Val Thr Pro Met Gln Val Thr
 385 390 395 400

15 Gln Lys Ala Leu Ser Ala Ala Glu Ser Ala Lys Ser Asp Ala Asp Lys
 405 410 415

Thr Thr Met Ile Pro Leu Asn Asp Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr
 420 425 430

20 Ser Val Asn Trp Ala Val Gly Ser Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly
 435 440 445

25 Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His Cys Phe Pro Gln Asn Pro His
 450 455 460

30 Thr Val Asn Val Tyr Ile Ser Gly Ile Val Lys Glu Thr Cys Glu Glu
 465 470 475 480

35 Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ala Glu Ile Ser Leu Phe Ser Ala Tyr Phe
 485 490 495

40 Lys Met Leu Ser His Leu Arg Thr Leu Gly Asn Glu Asp Leu Thr Ala
 500 505 510

Trp Ser Thr
 515

45 <210> 43
 <211> 960
 <212> DNA
 50 <213> *Thalassiosira pseudonana*

55 <220>
 <221> CDS
 60 <222> (1)..(960)
 <223> Delta-5-Elongase

65 <400> 43
 atg gtg ttg tac aat gtg gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg 48
 Met Val Leu Tyr Asn Val Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val
 1 5 10 15

70 tat gcg att gtg gat gcg gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga 96
 Tyr Ala Ile Val Asp Ala Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly
 20 25 30

72

	agt	aga	agt	ttg	gtt	ggg	gcg	gcg	ttg	cat	agt	ggg	agc	tcg	tat	gcg	144
	Ser	Arg	Ser	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Leu	His	Ser	Gly	Ser	Ser	Tyr	Ala	
			35					40					45				
5	gtg	tgg	gtt	cat	tat	tgt	gat	aag	tat	ttg	gag	ttc	ttt	gat	acg	tat	192
	Val	Trp	Val	His	Tyr	Cys	Asp	Lys	Tyr	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Thr	Tyr	
		50					55					60					
10	ttt	atg	gtg	ttg	agg	ggg	aaa	atg	gac	cag	atg	gta	ctt	ggt	gaa	gtt	240
	Phe	Met	Val	Leu	Arg	Gly	Lys	Met	Asp	Gln	Met	Val	Leu	Gly	Glu	Val	
	65					70					75					80	
15	ggt	ggc	agt	gtg	tgg	tgt	ggc	gtt	gga	tat	atg	gat	atg	gag	aag	atg	288
	Gly	Gly	Ser	Val	Trp	Cys	Gly	Val	Gly	Tyr	Met	Asp	Met	Glu	Lys	Met	
				85						90					95		
20	ata	cta	ctc	agc	ttt	gga	gtg	cat	cgg	tct	gct	cag	gga	acg	ggg	aag	336
	Ile	Leu	Leu	Ser	Phe	Gly	Val	His	Arg	Ser	Ala	Gln	Gly	Thr	Gly	Lys	
				100					105					110			
25	gct	ttc	acc	aac	aac	gtt	acc	aat	cca	cat	ctc	acg	ctt	cca	cct	cat	384
	Ala	Phe	Thr	Asn	Asn	Val	Thr	Asn	Pro	His	Leu	Thr	Leu	Pro	Pro	His	
			115					120					125				
30	tct	aca	aaa	aca	aaa	aaa	cag	gtc	tcc	ttc	ctc	cac	atc	tac	cac	cac	432
	Ser	Thr	Lys	Thr	Lys	Lys	Gln	Val	Ser	Phe	Leu	His	Ile	Tyr	His	His	
		130					135					140					
35	acg	acc	ata	gcg	tgg	gca	tgg	tgg	atc	gcc	ctc	cgc	ttc	tcc	ccc	ggt	480
	Thr	Thr	Ile	Ala	Trp	Ala	Trp	Trp	Ile	Ala	Leu	Arg	Phe	Ser	Pro	Gly	
	145					150					155					160	
40	gga	gac	att	tac	ttc	ggg	gca	ctc	ctc	aac	tcc	atc	atc	cac	gtc	ctc	528
	Gly	Asp	Ile	Tyr	Phe	Gly	Ala	Leu	Leu	Asn	Ser	Ile	Ile	His	Val	Leu	
				165						170					175		
45	atg	tat	tcc	tac	tac	gcc	ctt	gcc	cta	ctc	aag	gtc	agt	tgt	cga	tgg	576
	Met	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ala	Leu	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Ser	Cys	Pro	Trp	
				180					185					190			
50	aaa	cga	tac	ctg	act	caa	gct	caa	tta	ttg	caa	ttc	aca	agt	gtg	gtg	624
	Lys	Arg	Tyr	Leu	Thr	Gln	Ala	Gln	Leu	Leu	Gln	Phe	Thr	Ser	Val	Val	
			195				200					205					
55	gtt	tat	acg	ggg	tgt	acg	ggt	tat	act	cat	tac	tat	cat	acg	aag	cat	672
	Val	Tyr	Thr	Gly	Cys	Thr	Gly	Tyr	Thr	His	Tyr	Tyr	His	Thr	Lys	His	
		210					215					220					
60	gga	gcg	gat	gag	aca	cag	cct	agt	tta	gga	acg	tat	tat	ttc	tgt	tgt	720
	Gly	Ala	Asp	Glu	Thr	Gln	Pro	Ser	Leu	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Phe	Cys	Cys	
	225					230					235				240		
65	gga	gtg	cag	gtg	ttt	gag	atg	gtt	agt	ttg	ttt	gta	ctc	ttt	tcc	atc	768
	Gly	Val	Gln	Val	Phe	Glu	Met	Val	Ser	Leu	Phe	Val	Leu	Phe	Ser	Ile	
				245						250					255		
70	ttt	tat	aaa	cga	tcc	tat	tcg	aag	aag	aac	aag	tca	gga	gga	aag	gat	816
	Phe	Tyr	Lys	Arg	Ser	Tyr	Ser	Lys	Lys	Asn	Lys	Ser	Gly	Gly	Lys	Asp	
				260					265					270			
75	agc	aag	aag	aat	gat	gat	ggg	aat	aat	gag	gat	caa	tgt	cac	aag	gct	864
	Ser	Lys	Lys	Asn	Asp	Asp	Gly	Asn	Asn	Glu	Asp	Gln	Cys	His	Lys	Ala	
			275					280					285				
80	atg	aag	gat	ata	tcg	gag	ggt	gcg	aag	gag	gtt	gtg	ggg	cat	gca	gcg	912
	Met	Lys	Asp	Ile	Ser	Glu	Gly	Ala	Lys	Glu	Val	Val	Gly	His	Ala	Ala	
		290					295				300						
85	aag	gat	gct	gga	aag	ttg	gtg	gct	acg	aga	gta	agg	tgt	aag	gtg	taa	960
	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Leu	Val	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Cys	Lys	Val		
	305					310					315						

73

<210> 44
 <211> 319
 5 <212> PRT
 <213> *Thalassiosira pseudonana*
 10
 <400> 44
 Met Val Leu Tyr Asn Val Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val
 1 5 10 15
 15 Tyr Ala Ile Val Asp Ala Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly
 20 25 30
 20 Ser Arg Ser Leu Val Gly Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala
 35 40 45
 25 Val Trp Val His Tyr Cys Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr
 50 55 60
 30 Phe Met Val Leu Arg Gly Lys Met Asp Gln Met Val Leu Gly Glu Val
 65 70 75 80
 Gly Gly Ser Val Trp Cys Gly Val Gly Tyr Met Asp Met Glu Lys Met
 85 90 95
 35 Ile Leu Leu Ser Phe Gly Val His Arg Ser Ala Gln Gly Thr Gly Lys
 100 105 110
 40 Ala Phe Thr Asn Asn Val Thr Asn Pro His Leu Thr Leu Pro Pro His
 115 120 125
 45 Ser Thr Lys Thr Lys Lys Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His
 130 135 140
 50 Thr Thr Ile Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Asp Ile Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu
 165 170 175
 55 Met Tyr Ser Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp
 180 185 190
 60 Lys Arg Tyr Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val
 195 200 205
 65 Val Tyr Thr Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His
 210 215 220
 70 Gly Ala Asp Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys
 225 230 235 240
 Gly Val Gln Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile

74

	245	250	255	
5	Phe Tyr Lys Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp 260 265 270			
10	Ser Lys Lys Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala 275 280 285			
15	Met Lys Asp Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala 290 295 300			
	Lys Asp Ala Gly Lys Leu Val Ala Thr Arg Val Arg Cys Lys Val 305 310 315			
20	<210> 45			
	<211> 819			
	<212> DNA			
25	<213> Thalassiosira pseudonana			
30	<220>			
	<221> CDS			
	<222> (1)..(819)			
35	<223> Delta-5-Elongase			
40	<400> 45			
	atg gac gcc tac aac gct gca atg gat aag atc ggt gcc gcc atc atc Met Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Met Asp Lys Ile Gly Ala Ala Ile Ile 1 5 10 15			48
45	gat tgg tct gat ccc gat gga aag ttc cgt gcc gat aga gag gac tgg Asp Trp Ser Asp Pro Asp Gly Lys Phe Arg Ala Asp Arg Glu Asp Trp 20 25 30			96
50	tgg ctc tgc gac ttc cgt agc gcc atc acc atc gcc ctc atc tac atc Trp Leu Cys Asp Phe Arg Ser Ala Ile Thr Ile Ala Leu Ile Tyr Ile 35 40 45			144
55	gcc ttc gtc atc ctc ggt tcc gcc gtc atg caa tcc ctc ccc gca atg Ala Phe Val Ile Leu Gly Ser Ala Val Met Gln Ser Leu Pro Ala Met 50 55 60			192
60	gat ccc tac ccc atc aaa ttc ctc tac aac gtc tcc caa atc ttc ctt Asp Pro Tyr Pro Ile Lys Phe Leu Tyr Asn Val Ser Gln Ile Phe Leu 65 70 75 80			240
	tgt gcc tac atg act gtc gag gcg gga ttt ttg gcc tac cgc aat gga Cys Ala Tyr Met Thr Val Glu Ala Gly Phe Leu Ala Tyr Arg Asn Gly 85 90 95			288
65	tat acc gtc atg cct tgc aat cat ttc aat gtg aat gat cct ccc gtg Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val 100 105 110			336
70	gcg aat ctt ctt tgg ttg ttt tat att tcc aag gtg tgg gac ttt tgg Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp 115 120 125			384
	gat acc att ttc att gtg ttg ggg aag aag tgg cgt caa tta tct ttc			432

75

	Asp	Thr	Ile	Phe	Ile	Val	Leu	Gly	Lys	Lys	Trp	Arg	Gln	Leu	Ser	Phe	
	130						135					140					
5	ttg	cat	gta	tac	cat	cac	acc	acc	atc	ttt	cta	ttc	tat	tgg	ctg	aat	480
	Leu	His	Val	Tyr	His	His	Thr	Thr	Ile	Phe	Leu	Phe	Tyr	Trp	Leu	Asn	
	145					150					155				160		
10	gcc	aat	gtc	ttg	tac	gat	ggg	gac	atc	ttc	ctt	acc	atc	ttg	ctc	aat	528
	Ala	Asn	Val	Leu	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Phe	Leu	Thr	Ile	Leu	Leu	Asn	
					165					170					175		
15	gga	ttc	atc	cac	acg	gtg	atg	tac	acg	tat	tac	ttc	atc	tgt	atg	cat	576
	Gly	Phe	Ile	His	Thr	Val	Met	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Phe	Ile	Cys	Met	His	
				180					185					190			
20	acc	aaa	gat	tcc	aag	acg	ggc	aag	agt	ctt	cct	ata	tgg	tgg	aag	tcg	624
	Thr	Lys	Asp	Ser	Lys	Thr	Gly	Lys	Ser	Leu	Pro	Ile	Trp	Trp	Lys	Ser	
			195					200					205				
25	agt	ttg	acg	gcg	ttt	cag	ttg	ttg	caa	ttc	act	atc	atg	atg	agt	cag	672
	Ser	Leu	Thr	Ala	Phe	Gln	Leu	Leu	Gln	Phe	Thr	Ile	Met	Met	Ser	Gln	
		210				215					220						
30	gct	acc	tac	ctt	gtc	ttc	cac	ggg	tgt	gat	aag	gtg	tcg	ctt	cgt	atc	720
	Ala	Thr	Tyr	Leu	Val	Phe	His	Gly	Cys	Asp	Lys	Val	Ser	Leu	Arg	Ile	
	225					230				235						240	
35	acg	att	gtg	tac	ttt	gtg	tcc	ctt	ttg	agt	ttg	ttc	ttc	ctt	ttt	gct	768
	Thr	Ile	Val	Tyr	Phe	Val	Ser	Leu	Leu	Ser	Leu	Phe	Phe	Leu	Phe	Ala	
					245				250						255		
40	cag	ttc	ttt	gtg	caa	tca	tac	atg	gca	ccc	aaa	aag	aag	aag	agt	gct	816
	Gln	Phe	Phe	Val	Gln	Ser	Tyr	Met	Ala	Pro	Lys	Lys	Lys	Lys	Ser	Ala	
				260				265						270			
45	tag																819
50	<210>	46															
	<211>	272															
	<212>	PRT															
	<213>	Thalassiosira pseudonana															
55	<400>	46															
	Met	Asp	Ala	Tyr	Asn	Ala	Ala	Met	Asp	Lys	Ile	Gly	Ala	Ala	Ile	Ile	
	1				5					10					15		
60	Asp	Trp	Ser	Asp	Pro	Asp	Gly	Lys	Phe	Arg	Ala	Asp	Arg	Glu	Asp	Trp	
				20					25					30			
65	Trp	Leu	Cys	Asp	Phe	Arg	Ser	Ala	Ile	Thr	Ile	Ala	Leu	Ile	Tyr	Ile	
			35					40					45				
70	Ala	Phe	Val	Ile	Leu	Gly	Ser	Ala	Val	Met	Gln	Ser	Leu	Pro	Ala	Met	
		50					55					60					
	Asp	Pro	Tyr	Pro	Ile	Lys	Phe	Leu	Tyr	Asn	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	Leu	
	65				70					75						80	
	Cys	Ala	Tyr	Met	Thr	Val	Glu	Ala	Gly	Phe	Leu	Ala	Tyr	Arg	Asn	Gly	
					85				90						95		

76

Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val
 100 105 110
 5
 Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp
 115 120 125
 10
 Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu Ser Phe
 130 135 140
 15
 Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp Leu Asn
 145 150 155 160
 20
 Ala Asn Val Leu Tyr Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Leu Leu Asn
 165 170 175
 Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Tyr Phe Ile Cys Met His
 180 185 190
 25
 Thr Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp Lys Ser
 195 200 205
 30
 Ser Leu Thr Ala Phe Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ile Met Met Ser Gln
 210 215 220
 35
 Ala Thr Tyr Leu Val Phe His Gly Cys Asp Lys Val Ser Leu Arg Ile
 225 230 235 240
 40
 Thr Ile Val Tyr Phe Val Ser Leu Leu Ser Leu Phe Phe Leu Phe Ala
 245 250 255
 Gln Phe Phe Val Gln Ser Tyr Met Ala Pro Lys Lys Lys Lys Ser Ala
 260 265 270
 45
 <210> 47
 <211> 936
 50
 <212> DNA
 <213> Crypthecodinium cohnii
 55
 <220>
 <221> CDS
 60
 <222> (1)..(936)
 <223> Delta-5-Elongase
 65
 <400> 47
 atg tct gcc ttc atg act ctc cca cag gct ctc tcc gat gtg acc tcg
 Met Ser Ala Phe Met Thr Leu Pro Gln Ala Leu Ser Asp Val Thr Ser
 1 5 10 15 48
 70
 gcc ttg gtc acg ctg gga aag gat gtc tcc agc cct tca gct ttt caa
 Ala Leu Val Thr Leu Gly Lys Asp Val Ser Ser Pro Ser Ala Phe Gln
 20 25 30 96

77

5	gct gtc act ggc ttc tgc agg gag cag tgg ggg att ccg aca gta ttc	144
	Ala Val Thr Gly Phe Cys Arg Glu Gln Trp Gly Ile Pro Thr Val Phe	
	35 40 45	
10	tgc ctg ggc tac ttg gcc atg gtc tac gcg gcc aga aga ccc ctc ccg	192
	Cys Leu Gly Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Ala Arg Arg Pro Leu Pro	
	50 55 60	
15	cag cac ggc tac atg gtt gcg gtg gac cgt tgc ttc gct gct tgg aac	240
	Gln His Gly Tyr Met Val Ala Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn	
	65 70 75 80	
20	ttg gct ctc tct gtc ttc agc act tgg ggc ttc tac cac atg gct gtc	288
	Leu Ala Leu Ser Val Phe Ser Thr Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val	
	85 90 95	
25	ggg ctc tac aac atg aca gag acg agg ggc ttg caa ttc acc atc tgc	336
	Gly Leu Tyr Asn Met Thr Glu Thr Arg Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys	
	100 105 110	
30	ggt tcg act ggg gag ctc gtg cag aac ctt cag act ggc cca acc gct	384
	Gly Ser Thr Gly Glu Leu Val Gln Asn Leu Gln Thr Gly Pro Thr Ala	
	115 120 125	
35	ctg gcg ctc tgc ctc ttc tgc ttc agc aag atc ccc gag ttg atg gac	432
	Leu Ala Leu Cys Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Met Asp	
	130 135 140	
40	acg gtg ttt ctc atc ctg aag gcc aag aag gtc cgc ttc ttg cag tgg	480
	Thr Val Phe Leu Ile Leu Lys Ala Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp	
	145 150 155 160	
45	tac cac cat gcc aca gtc atg ctc ttc tgt tgg ctc gcc ctc gcg acg	528
	Tyr His His Ala Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Leu Ala Leu Ala Thr	
	165 170 175	
50	gag tac act cct ggc ttg tgg ttt gcg gcg acg aac tac ttc gtg cac	576
	Glu Tyr Thr Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His	
	180 185 190	
55	tcc atc atg tac atg tac ttc ttc ctc atg acc ttc aag tcg gcc gcg	624
	Ser Ile Met Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Ser Ala Ala	
	195 200 205	
60	aag gtg gtg aag ccc atc gcc cct ctc atc aca gtt atc cag att gct	672
	Lys Val Val Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Val Ile Gln Ile Ala	
	210 215 220	
65	cag atg gtc tgg ggc ctc atc gtc aac ggc atc gcc atc acc acc ttc	720
	Gln Met Val Trp Gly Leu Ile Val Asn Gly Ile Ala Ile Thr Thr Phe	
	225 230 235 240	
70	ttc acg act ggt gcc tgc cag atc cag tct gtg act gtg tat tcg gcc	768
	Phe Thr Thr Gly Ala Cys Gln Ile Gln Ser Val Thr Val Tyr Ser Ala	
	245 250 255	
75	atc atc atg tac gct tcg tac ttc tac ctg ttc tcc cag ctc ttc ttc	816
	Ile Ile Met Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Ser Gln Leu Phe Phe	
	260 265 270	
80	gag gcc cat ggt gcc gct ggc aag aac aag aag aag ttg acc cgc gag	864
	Glu Ala His Gly Ala Ala Gly Lys Asn Lys Lys Lys Leu Thr Arg Glu	
	275 280 285	
85	ctc tct cga aaa atc tcg gag gct ctc ctg aac acc ggt gac gag gtt	912
	Leu Ser Arg Lys Ile Ser Glu Ala Leu Leu Asn Thr Gly Asp Glu Val	
	290 295 300	
90	tcc aag cac ctg aag gtg aat tga	936
	Ser Lys His Leu Lys Val Asn	
	305 310	

78

5 <210> 48
 <211> 311
 <212> PRT
 <213> Crypthecodinium cohnii
 10
 <400> 48
 15 Met Ser Ala Phe Met Thr Leu Pro Gln Ala Leu Ser Asp Val Thr Ser
 1 5 10 15
 20 Ala Leu Val Thr Leu Gly Lys Asp Val Ser Ser Pro Ser Ala Phe Gln
 20 25 30
 25 Ala Val Thr Gly Phe Cys Arg Glu Gln Trp Gly Ile Pro Thr Val Phe
 35 40 45
 30 Cys Leu Gly Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Ala Arg Arg Pro Leu Pro
 50 55 60
 35 Gln His Gly Tyr Met Val Ala Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn
 65 70 75 80
 40 Leu Ala Leu Ser Val Phe Ser Thr Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val
 85 90 95
 45 Gly Leu Tyr Asn Met Thr Glu Thr Arg Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys
 100 105 110
 50 Gly Ser Thr Gly Glu Leu Val Gln Asn Leu Gln Thr Gly Pro Thr Ala
 115 120 125
 55 Leu Ala Leu Cys Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Met Asp
 130 135 140
 60 Thr Val Phe Leu Ile Leu Lys Ala Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp
 145 150 155 160
 65 Tyr His His Ala Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Leu Ala Leu Ala Thr
 165 170 175
 70 Glu Tyr Thr Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His
 180 185 190
 Ser Ile Met Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Ser Ala Ala
 195 200 205
 Lys Val Val Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Val Ile Gln Ile Ala
 210 215 220
 Gln Met Val Trp Gly Leu Ile Val Asn Gly Ile Ala Ile Thr Thr Phe
 225 230 235 240

79

Phe Thr Thr Gly Ala Cys Gln Ile Gln Ser Val Thr Val Tyr Ser Ala
245 250 255

5 Ile Ile Met Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Ser Gln Leu Phe Phe
260 265 270

10 Glu Ala His Gly Ala Ala Gly Lys Asn Lys Lys Lys Leu Thr Arg Glu
275 280 285

15 Leu Ser Arg Lys Ile Ser Glu Ala Leu Leu Asn Thr Gly Asp Glu Val
290 295 300

Ser Lys His Leu Lys Val Asn
305 310

20 <210> 49
<211> 927

25 <212> DNA
<213> Crypthecodinium cohnii

30 <220>
<221> CDS

35 <222> (1)..(927)
<223> Delta-5-Elongase

40 <400> 49
atg gct tcc tac caa caa gca ttc tcc gaa ttg gct aga gct ttg tcc 48
Met Ala Ser Tyr Gln Gln Ala Phe Ser Glu Leu Ala Arg Ala Leu Ser
1 5 10 15

45 act ttg aac cac gac ttc tcc agc gtc gag cca ttc aaa gtc gtg acg 96
Thr Leu Asn His Asp Phe Ser Ser Val Glu Pro Phe Lys Val Val Thr
20 25 30

50 cag ttc tgc agg gac cag tgg gcg atc cgg aca gtc ttt tgc atc ggt 144
Gln Phe Cys Arg Asp Gln Trp Ala Ile Pro Thr Val Phe Cys Ile Gly
35 40 45

55 tac ttg gca atg gtc tac gcc acg cga aga cct atc gcg aag cac ccc 192
Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Thr Arg Arg Pro Ile Ala Lys His Pro
50 55 60

60 tac atg tct ctc gtg gat cgc tgc ttt gcg gcc tgg aac ttg ggc ctc 240
Tyr Met Ser Leu Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn Leu Gly Leu
65 70 75 80

65 tgc ctc ttc agt tgc tgg ggc ttc tac cac atg gca gtg gga ctc tcc 288
Ser Leu Phe Ser Cys Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val Gly Leu Ser
85 90 95

70 cac acc act tgg aat ttc ggc ctc cag ttc acc atc tgc ggc agc acc 336
His Thr Thr Trp Asn Phe Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys Gly Ser Thr
100 105 110

acg gag ctt gtg aat ggc ttc cag aag ggc cgg gcg gcc ctc gcc ctc 384
Thr Glu Leu Val Asn Gly Phe Gln Lys Gly Pro Ala Ala Leu Ala Leu
115 120 125

80

	atc	ctg	ttc	tgc	ttc	tcc	aag	atc	ccg	gag	ttg	ggc	gac	acc	gtc	ttc	432
	Ile	Leu	Phe	Cys	Phe	Ser	Lys	Ile	Pro	Glu	Leu	Gly	Asp	Thr	Val	Phe	
		130					135					140					
5	ttg	atc	ttg	aag	gga	aag	aag	gtc	cgc	ttc	ttg	cag	tgg	tac	cac	cac	480
	Leu	Ile	Leu	Lys	Gly	Lys	Lys	Val	Arg	Phe	Leu	Gln	Trp	Tyr	His	His	
	145				150						155					160	
10	acg	acc	gtg	atg	ctc	ttc	tgt	tgg	atg	gcc	ttg	gcg	act	gag	tac	act	528
	Thr	Thr	Val	Met	Leu	Phe	Cys	Trp	Met	Ala	Leu	Ala	Thr	Glu	Tyr	Thr	
					165					170					175		
15	cct	gga	ttg	tgg	ttc	gcg	gcc	acg	aac	tac	ttc	gtg	cac	tcc	atc	atg	576
	Pro	Gly	Leu	Trp	Phe	Ala	Ala	Thr	Asn	Tyr	Phe	Val	His	Ser	Ile	Met	
			180						185					190			
20	tac	atg	tac	ttc	ttc	ctc	atg	acc	ttc	aag	acg	gcc	gcc	ggc	atc	atc	624
	Tyr	Met	Tyr	Phe	Phe	Leu	Met	Thr	Phe	Lys	Thr	Ala	Ala	Gly	Ile	Ile	
			195					200					205				
25	aag	ccc	atc	gcg	cct	ctc	atc	acc	atc	atc	cag	atc	tcc	cag	atg	gtc	672
	Lys	Pro	Ile	Ala	Pro	Leu	Ile	Thr	Ile	Ile	Gln	Ile	Ser	Gln	Met	Val	
		210					215					220					
30	tgg	ggc	ttg	gtc	gtg	aac	gcc	atc	gcc	gtc	ggc	acc	ttc	ttc	acc	aca	720
	Trp	Gly	Leu	Val	Val	Asn	Ala	Ile	Ala	Val	Gly	Thr	Phe	Phe	Thr	Thr	
	225					230				235					240		
35	ggc	aac	tgc	cag	atc	cag	gca	gtg	aca	gtc	tac	tcc	gcc	atc	gtg	atg	768
	Gly	Asn	Cys	Gln	Ile	Gln	Ala	Val	Thr	Val	Tyr	Ser	Ala	Ile	Val	Met	
					245					250					255		
40	tac	gcc	tcc	tac	ttc	tac	ctc	ttc	ggc	cag	ctc	ttc	ttc	gag	gcc	cag	816
	Tyr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Leu	Phe	Gly	Gln	Leu	Phe	Phe	Glu	Ala	Gln	
				260					265					270			
45	ggt	tcg	gct	gga	aag	gac	aag	aag	aag	ttg	gcc	cga	gag	ctg	agc	cga	864
	Gly	Ser	Ala	Gly	Lys	Asp	Lys	Lys	Lys	Leu	Ala	Arg	Glu	Leu	Ser	Arg	
			275					280					285				
50	aag	gtc	tcg	cgg	gct	ctc	aca	gca	acg	ggc	gaa	gag	gtg	tcg	aag	cac	912
	Lys	Val	Ser	Arg	Ala	Leu	Thr	Ala	Thr	Gly	Glu	Glu	Val	Ser	Lys	His	
		290					295					300					
55	atg	aag	gtg	aat	tga												927
	Met	Lys	Val	Asn													
	305																
60	<210>	50															
	<211>	308															
	<212>	PRT															
	<213>	Crypthecodinium cohnii															
65	<400>	50															
	Met	Ala	Ser	Tyr	Gln	Gln	Ala	Phe	Ser	Glu	Leu	Ala	Arg	Ala	Leu	Ser	
	1				5					10					15		
70	Thr	Leu	Asn	His	Asp	Phe	Ser	Ser	Val	Glu	Pro	Phe	Lys	Val	Val	Thr	
				20					25					30			
	Gln	Phe	Cys	Arg	Asp	Gln	Trp	Ala	Ile	Pro	Thr	Val	Phe	Cys	Ile	Gly	
			35					40					45				

81

Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Thr Arg Arg Pro Ile Ala Lys His Pro
 50 55 60

5 Tyr Met Ser Leu Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn Leu Gly Leu
 65 70 75 80

10 Ser Leu Phe Ser Cys Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val Gly Leu Ser
 85 90 95

15 His Thr Thr Trp Asn Phe Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys Gly Ser Thr
 100 105 110

20 Thr Glu Leu Val Asn Gly Phe Gln Lys Gly Pro Ala Ala Leu Ala Leu
 115 120 125

25 Ile Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Gly Asp Thr Val Phe
 130 135 140

30 Leu Ile Leu Lys Gly Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp Tyr His His
 145 150 155 160

35 Thr Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Met Ala Leu Ala Thr Glu Tyr Thr
 165 170 175

40 Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His Ser Ile Met
 180 185 190

45 Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Thr Ala Ala Gly Ile Ile
 195 200 205

50 Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Ile Ile Gln Ile Ser Gln Met Val
 210 215 220

55 Trp Gly Leu Val Val Asn Ala Ile Ala Val Gly Thr Phe Phe Thr Thr
 225 230 235 240

60 Gly Asn Cys Gln Ile Gln Ala Val Thr Val Tyr Ser Ala Ile Val Met
 245 250 255

65 Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Gly Gln Leu Phe Phe Glu Ala Gln
 260 265 270

70 Gly Ser Ala Gly Lys Asp Lys Lys Lys Leu Ala Arg Glu Leu Ser Arg
 275 280 285

75 Lys Val Ser Arg Ala Leu Thr Ala Thr Gly Glu Glu Val Ser Lys His
 290 295 300

80 Met Lys Val Asn
 305

<210> 51
 <211> 795

82

<212> DNA

<213> *Oncorhynchus mykiss*

5

<220>

10

<221> CDS

<222> (1)..(795)

<223> Delta-5-Elongase

15

<400> 51

atg	gct	tca	aca	tgg	caa	agc	gtt	cag	tcc	atg	cgc	cag	tgg	att	tta	48
Met	Ala	Ser	Thr	Trp	Gln	Ser	Val	Gln	Ser	Met	Arg	Gln	Trp	Ile	Leu	
1				5				10					15			

20

gag	aat	gga	gat	aaa	agg	aca	gac	cca	tgg	cta	ctg	gtc	tac	tcc	cct	96
Glu	Asn	Gly	Asp	Lys	Arg	Thr	Asp	Pro	Trp	Leu	Leu	Val	Tyr	Ser	Pro	
			20					25				30				

25

atg	cca	gtg	gcc	att	ata	ttc	ctc	ctc	tat	ctt	ggg	gtg	gtc	tgg	gct	144
Met	Pro	Val	Ala	Ile	Ile	Phe	Leu	Leu	Tyr	Leu	Gly	Val	Val	Trp	Ala	
		35					40					45				

30

ggg	ccc	aag	ctg	atg	aaa	cgc	agg	gaa	cca	gtt	gat	ctc	aag	gct	gta	192
Gly	Pro	Lys	Leu	Met	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Val	Asp	Leu	Lys	Ala	Val	
		50				55					60					

35

ctc	att	gtc	tac	aac	ttc	gcc	atg	gtc	tgc	ctg	tct	gtc	tac	atg	ttc	240
Leu	Ile	Val	Tyr	Asn	Phe	Ala	Met	Val	Cys	Leu	Ser	Val	Tyr	Met	Phe	
65				70					75						80	

40

cat	gag	ttc	ttg	gtc	acg	tcc	ttg	ctg	tct	aac	tac	agt	tac	ctg	tgt	288
His	Glu	Phe	Leu	Val	Thr	Ser	Leu	Leu	Ser	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Cys	
			85					90						95		

45

caa	cct	gtg	gat	tac	agc	act	agt	cca	ctg	gcg	atg	agg	atg	gcc	aaa	336
Gln	Pro	Val	Asp	Tyr	Ser	Thr	Ser	Pro	Leu	Ala	Met	Arg	Met	Ala	Lys	
			100					105					110			

50

gta	tgc	tgg	tgg	ttt	ttc	ttc	tcc	aag	gtc	ata	gaa	ttg	gct	gac	acg	384
Val	Cys	Trp	Trp	Phe	Phe	Phe	Ser	Lys	Val	Ile	Glu	Leu	Ala	Asp	Thr	
		115					120					125				

55

gtg	ttc	ttc	atc	ctg	agg	aag	aag	aac	agt	cag	ctg	act	ttc	ctg	cat	432
Val	Phe	Phe	Ile	Leu	Arg	Lys	Lys	Asn	Ser	Gln	Leu	Thr	Phe	Leu	His	
		130				135					140					

60

gtc	tat	cac	cat	ggc	acc	atg	atc	ttc	aac	tgg	tgg	gca	ggg	gtc	aag	480
Val	Tyr	His	His	Gly	Thr	Met	Ile	Phe	Asn	Trp	Trp	Ala	Gly	Val	Lys	
				150						155				160		

65

tat	ctg	gct	gga	ggc	caa	tcg	ttc	ttc	atc	ggc	ctg	ctc	aat	acc	ttt	528
Tyr	Leu	Ala	Gly	Gly	Gln	Ser	Phe	Phe	Ile	Gly	Leu	Leu	Asn	Thr	Phe	
			165					170						175		

70

gtg	cac	atc	gtg	atg	tac	tct	tac	tac	gga	ctg	gct	gcc	ctg	ggg	cct	576
Val	His	Ile	Val	Met	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Ala	Ala	Leu	Gly	Pro	
			180					185					190			

cac	acg	cag	aag	tac	tta	tgg	tgg	aag	cgc	tat	ctg	acc	tca	ctg	cag	624
His	Thr	Gln	Lys	Tyr	Leu	Trp	Trp	Lys	Arg	Tyr	Leu	Thr	Ser	Leu	Gln	
		195				200					205					

ctg	ctc	cag	ttt	gtc	ctg	ttg	acc	act	cac	act	ggc	tac	aac	ctc	ttc	672
Leu	Leu	Gln	Phe	Val	Leu	Leu	Thr	Thr	His	Thr	Gly	Tyr	Asn	Leu	Phe	
		210				215					220					

83

act gag tgt gac ttc ccg gac tcc atg aac gct gtg gtg ttt gcc tac 720
 Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr
 225 230 235 240

5 tgt gtc agt ctc att gct ctc ttc agc aac ttc tac tat cag agc tac 768
 Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr
 245 250 255

10 ctc aac agg aag agc aag aag aca taa 795
 Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr
 260

15 <210> 52
 <211> 264
 <212> PRT

20 <213> Oncorhynchus mykiss

25 <400> 52
 Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu
 1 5 10 15

30 Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro
 20 25 30

35 Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala
 35 40 45

40 Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val
 50 55 60

Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe
 65 70 75 80

45 His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys
 85 90 95

50 Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys
 100 105 110

55 Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr
 115 120 125

60 Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His
 130 135 140

Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys
 145 150 155 160

65 Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe
 165 170 175

70 Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro
 180 185 190

84

	His	Thr	Gln	Lys	Tyr	Leu	Trp	Trp	Lys	Arg	Tyr	Leu	Thr	Ser	Leu	Gln	
			195					200					205				
5	Leu	Leu	Gln	Phe	Val	Leu	Leu	Thr	Thr	His	Thr	Gly	Tyr	Asn	Leu	Phe	
		210					215					220					
10	Thr	Glu	Cys	Asp	Phe	Pro	Asp	Ser	Met	Asn	Ala	Val	Val	Phe	Ala	Tyr	
	225					230					235					240	
15	Cys	Val	Ser	Leu	Ile	Ala	Leu	Phe	Ser	Asn	Phe	Tyr	Tyr	Gln	Ser	Tyr	
					245					250					255		
20	Leu	Asn	Arg	Lys	Ser	Lys	Lys	Thr									
				260													
25	<210>	53															
	<211>	885															
	<212>	DNA															
	<213>	Oncorhynchus mykiss															
30	<220>																
	<221>	CDS															
35	<222>	(1)..(885)															
	<223>	Delta-5-Elongase															
40	<400>	53															
	atg	gag	act	ttt	aat	tat	aaa	cta	aac	atg	tac	ata	gac	tca	tgg	atg	48
	Met	Glu	Thr	Phe	Asn	Tyr	Lys	Leu	Asn	Met	Tyr	Ile	Asp	Ser	Trp	Met	
	1				5					10					15		
45	ggt	ccc	aga	gat	gag	cgg	gta	cag	gga	tgg	ctg	ctt	ctg	gac	aac	tac	96
	Gly	Pro	Arg	Asp	Glu	Arg	Val	Gln	Gly	Trp	Leu	Leu	Leu	Asp	Asn	Tyr	
				20					25					30			
50	cct	cca	acc	ttt	gca	cta	aca	gtc	atg	tac	ctg	ctg	atc	gta	tgg	atg	144
	Pro	Pro	Thr	Phe	Ala	Leu	Thr	Val	Met	Tyr	Leu	Leu	Ile	Val	Trp	Met	
			35					40					45				
55	ggg	ccc	aag	tac	atg	aga	cac	aga	cag	ccg	gtg	tct	tgc	cgg	ggt	ctc	192
	Gly	Pro	Lys	Tyr	Met	Arg	His	Arg	Gln	Pro	Val	Ser	Cys	Arg	Gly	Leu	
		50					55					60					
60	ctc	ttg	gtc	tac	aat	ctg	ggc	ctc	acg	atc	ttg	tcc	ttc	tat	atg	ttc	240
	Leu	Leu	Val	Tyr	Asn	Leu	Gly	Leu	Thr	Ile	Leu	Ser	Phe	Tyr	Met	Phe	
	65					70					75					80	
65	tat	gag	atg	gtg	tct	gct	gtg	tgg	cac	ggg	gat	tat	aac	ttc	ttt	tgc	288
	Tyr	Glu	Met	Val	Ser	Ala	Val	Trp	His	Gly	Asp	Tyr	Asn	Phe	Phe	Cys	
					85					90					95		
70	caa	gac	aca	cac	agt	gca	gga	gaa	acc	gat	acc	aag	atc	ata	aat	gtg	336
	Gln	Asp	Thr	His	Ser	Ala	Gly	Glu	Thr	Asp	Thr	Lys	Ile	Ile	Asn	Val	
				100					105					110			
	ctg	tgg	tgg	tac	tac	ttc	tcc	aag	ctc	ata	gag	ttt	atg	gat	acc	ttc	384
	Leu	Trp	Trp	Tyr	Tyr	Phe	Ser	Lys	Leu	Ile	Glu	Phe	Met	Asp	Thr	Phe	
			115					120					125				

85

	ttc ttc atc ctg cgg aag aac aac cat caa atc acg ttt ctg cac atc	432
	Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile	
	130 135 140	
5	tac cac cat gct agc atg ctc aac atc tgg tgg ttc gtc atg aac tgg	480
	Tyr His His Ala Ser Met Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp	
	145 150 155 160	
10	gtg ccc tgt ggt cac tcc tac ttt ggt gcc tcc ctg aac agc ttc atc	528
	Val Pro Cys Gly His Ser Tyr Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile	
	165 170 175	
15	cat gtc ctg atg tac tct tac tat ggg ctc tct gct gtc ccg gcc ttg	576
	His Val Leu Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu	
	180 185 190	
20	cgg ccc tat cta tgg tgg aag aaa tac atc aca caa gta cag ctg att	624
	Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile	
	195 200 205	
25	cag ttc ttt ttg acc atg tcc cag acg ata tgt gca gtc att tgg cca	672
	Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro	
	210 215 220	
30	tgt gat ttc ccc aga ggg tgg ctg tat ttc cag ata ttc tat gtc atc	720
	Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile	
	225 230 235 240	
35	aca ctt att gcc ctt ttc tca aac ttc tac att cag act tac aag aaa	768
	Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys	
	245 250 255	
40	cac ctt gtt tca caa aag aag gag tat cat cag aat ggc tct gtt gct	816
	His Leu Val Ser Gln Lys Lys Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala	
	260 265 270	
45	tca ttg aat ggc cat gtg aat ggg gtg aca ccc acg gaa acc att aca	864
	Ser Leu Asn Gly His Val Asn Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr	
	275 280 285	
50	cac agg aaa gtg agg ggg gac	885
	His Arg Lys Val Arg Gly Asp	
	290 295	
55	<210> 54	
	<211> 295	
60	<212> PRT	
	<213> Oncorhynchus mykiss	
65	<400> 54	
70	Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met	
	1 5 10 15	
	Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr	
	20 25 30	
	Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Pro Lys Tyr Met Arg His Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu	
	50 55 60	

86

Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe
65 70 75 80

5 Tyr Glu Met Val Ser Ala Val Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys
85 90 95

10 Gln Asp Thr His Ser Ala Gly Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val
100 105 110

Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe
115 120 125

Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile
130 135 140

20 Tyr His His Ala Ser Met Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp
145 150 155 160

25 Val Pro Cys Gly His Ser Tyr Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile
165 170 175

30 His Val Leu Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu
180 185 190

Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile
195 200 205

Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro
210 215 220

40 Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile
225 230 235 240

45 Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys
245 250 255

50 His Leu Val Ser Gln Lys Lys Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala
260 265 270

Ser Leu Asn Gly His Val Asn Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr
275 280 285

His Arg Lys Val Arg Gly Asp
290 295

60 <210> 55

<211> 6753

65 <212> DNA

<213> Oncorhynchus mykiss

70
<220>

<221> CDS

<222> (513) . . (1397)

5 <223> Delta-5-Elongase

[illegible]

88

	tat ggg ctc tct gct gtc ccg gcc ttg cgg ccc tat cta tgg tgg aag	1109
	Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys	
	185 190 195	
5	aaa tac atc aca caa gta cag ctg att cag ttc ttt ttg acc atg tcc	1157
	Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser	
	200 205 210 215	
10	cag acg ata tgt gca gtc att tgg cca tgt gat ttc ccc aga ggg tgg	1205
	Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp	
	220 225 230	
15	ctg tat ttc cag ata ttc tat gtc atc aca ctt att gcc ctt ttc tca	1253
	Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser	
	235 240 245	
20	aac ttc tac att cag act tac aag aaa cac ctt gtt tca caa aag aag	1301
	Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys His Leu Val Ser Gln Lys Lys	
	250 255 260	
	gag tat cat cag aat ggc tct gtt gct tca ttg aat ggc cat gtg aat	1349
	Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala Ser Leu Asn Gly His Val Asn	
	265 270 275	
25	ggg gtg aca ccc acg gaa acc att aca cac agg aaa gtg agg ggg gac	1397
	Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr His Arg Lys Val Arg Gly Asp	
	280 285 290 295	
30	tgaaggatcc actagtaacg gccgccagtg tgctggaatt ctgcagatat ccagcacagt	1457
	ggcggccgct cgagtctaga gggcccttcg aaggtaagcc tatccctaac cctctcctcg	1517
	gtctcgattc tacgcgtacc ggtcatcatc accatcacca ttgagtttaa acccgctgat	1577
35	cctagagggc cgcacatcatgt aattagttat gtcacgctta cattcacgcc ctccccccac	1637
	atccgctcta accgaaaagg aaggagttag acaacctgaa gtctaggtcc ctattttattt	1697
40	ttttatagtt atgttagtat taagaacggt atttatatattt caaattttttc ttttttttct	1757
	gtacagacgc gtgtacgcat gtaacattat actgaaaacc ttgcttgaga aggttttgagg	1817
	acgctcgaag gctttaattt gcaagctgcg gccctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg	1877
45	gggagaggcg gtttgcgat tgggcgctct tccgcttctc cgctcactga ctcgctgcgc	1937
	tcggctcggtc ggctgcggcg agcgggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc	1997
50	acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaagcccagg	2057
	aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat	2117
	cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag	2177
55	gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga	2237
	tacctgtccg cctttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg	2297
60	tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt	2357
	cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac	2417
	gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc	2477
65	ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct acactagaag gacagtattt	2537
	ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttccgaaaaa gagttggtag ctcttgatcc	2597
70	ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt ttttttggtt gcaagcagca gattacgcgc	2657
	agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtg	2717
	aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag	2777

	atccttttta	attaaaaatg	aagtttttaa	tcaatctaaa	gtatatatga	gtaaaacttgg	2837
5	tctgacagtt	accaatgctt	aatcagtgag	gcacctatct	cagcgatctg	tctatttcgt	2897
	tcattccatag	ttgcctgact	ccccgtcgtg	tagataacta	cgatacggga	gcgcttacca	2957
	tctggcccca	gtgctgcaat	gataccgcga	gacccacgct	caccggctcc	agattttatca	3017
10	gcaataaaacc	agccagccgg	aagggccgag	cgcagaagtg	gtcctgcaac	tttatccgcc	3077
	tccatccagt	ctattaattg	ttgcgggaa	gctagagtaa	gtagtctgcc	agttaatagt	3137
15	ttgcgcaacg	ttgttgccat	tgctacaggc	atcgtgggtg	cacgctcgtc	gtttgggtatg	3197
	gcttcattca	gctccgggtc	ccaacgatca	aggcgagtta	catgatcccc	catgtttgtgc	3257
	aaaaaagcgg	ttagctcctt	cggtcctccg	atcgttgtca	gaagtaagtt	ggccgcagtg	3317
20	ttatcactca	tggttatggc	agcactgcat	aattctctta	ctgtcatgcc	atccgtaaga	3377
	tgcttttctg	tgactgggtga	gtactcaacc	aagtcattct	gagaatagtg	tatgcggcga	3437
25	ccgagttgct	cttgcccggc	gtcaacacgg	gataataccg	cgccacatag	cagaacttta	3497
	aaagtgtctca	tcattggaaa	acgttcttcg	gggcgaaaaac	tctcaaggat	cttaccgctg	3557
	ttgagatcca	gttcgatgta	accactcgt	gcacccaact	gatcttcagc	atcttttact	3617
30	ttcaccagcg	tttctgggtg	agcaaaaaca	ggaaggcaaa	atgccgcaaa	aaaggggaata	3677
	agggcgacac	ggaaatgttg	aatactcata	ctcttccttt	ttcaatatta	ttgaagcatt	3737
35	tatcaggggt	attgtctcat	gagcggatac	atatttgaat	gtatttagaa	aaataaacaa	3797
	ataggggttc	cgcgcacatt	tccccgaaaa	gtgccacctg	acgtctaaga	aaccattatt	3857
	atcatgacat	taacctataa	aaataggcgt	atcacgaggc	cctttcgtct	tcaagaaatt	3917
40	cggctcgaaaa	aagaaaagga	gagggccaag	agggagggca	ttggtgacta	ttgagcacgt	3977
	gagtatacgt	gattaagcac	acaaaggcag	cttggagtat	gtctgttatt	aatttcacag	4037
45	gtagtctctg	tccattgggtg	aaagtttgcg	gcttgagag	cacagaggcc	gcagaatgtg	4097
	ctctagattc	cgatgctgac	ttgctgggtg	ttatatgtgt	gcccaataga	aagagaacaa	4157
	ttgaccgggt	tattgcaagg	aaaattttcaa	gtcttgtaaa	agcatataaa	aatagttcag	4217
50	gcactccgaa	atacttggtt	ggcgtgtttc	gtaatcaacc	taaggaggat	gttttggctc	4277
	tggtcaatga	ttacggcatt	gatatcgtcc	aactgcacgg	agatgagtcg	tggcaagaat	4337
55	accaagagtt	cctcggtttg	ccagttatta	aaagactcgt	atttccaaaa	gactgcaaca	4397
	tactactcag	tgcagcttca	cagaaacctc	attcgtttat	tcccttgttt	gattcagaag	4457
	caggtgggac	aggtgaactt	ttggattgga	actcgatttc	tgactgggtt	ggaaggcaag	4517
60	agagccccga	gagcttacat	tttatgttag	ctgggtggact	gacgccagaa	aatgttggtg	4577
	atgcgcttag	attaaatggc	gttatgggtg	ttgatgtaag	cggagggtgtg	gagacaaatg	4637
65	gtgtaaaaga	ctctaacaaa	atagcaaat	tcgtcaaaaa	tgctaagaaa	taggttatta	4697
	ctgagtagta	tttatttaag	tattgtttgt	gcacttgccc	tagcttatcg	atgataagct	4757
	gtcaaaagatg	agaattaatt	ccacggacta	tagactatac	tagatactcc	gtctactgta	4817
70	cgatacactt	ccgctcaggt	ccttgctcctt	taacgaggcc	ttaccactct	tttgttactc	4877
	tattgatcca	gctcagcaaa	ggcagtggtga	tctaagattc	tatcttcgcg	atgtagtaaa	4937

90

	actagctaga	ccgagaaaga	gactagaaat	gcaaaaggca	cttctacaat	ggctgccatc	4997
	attattatcc	gatgtgacgc	tgcagcttct	caatgatatt	cgaatacgct	ttgaggagat	5057
5	acagccta	atccgacaaa	ctgttttaca	gattttacgat	cgtacttggt	acccatcatt	5117
	gaattttgaa	catccgaacc	tgggagtttt	ccctgaaaca	gatagtatat	ttgaacctgt	5177
10	ataataatat	atagtctagc	gcttttacgga	agacaatgta	tgtatttcgg	ttcctggaga	5237
	aactattgca	tctattgcat	aggtaatctt	gcacgtcgca	tccccgggtc	attttctgcg	5297
	tttccatctt	gcacttcaat	agcatatctt	tgttaacgaa	gcatctgtgc	ttcattttgt	5357
15	agaacaaaa	tgcaacgcga	gagcgcta	ttttcaaaca	aagaatctga	gctgcatttt	5417
	tacagaacag	aaatgcaacg	cgaagcgct	atttttaccaa	cgaagaatct	gtgcttcatt	5477
20	tttgtaaaac	aaaaatgcaa	cgcgacgaga	gcgctaattt	ttcaaacaaa	gaatctgagc	5537
	tgcattttta	cagaacagaa	atgcaacgcg	agagcgctat	tttaccacaa	aagaatctat	5597
	acttcttttt	tgttctacaa	aaatgcatcc	cgaagcgct	atttttctaa	caaagcatct	5657
25	tagattactt	tttttctcct	ttgtgogctc	tataatgcag	tctcttgata	actttttgca	5717
	ctgtaggtcc	gttaagggtta	gaagaaggct	actttgggtgt	ctattttctc	ttccataaaa	5777
30	aaagcctgac	tccacttccc	gcgtttactg	attactagcg	aagctgcggg	tgcatttttt	5837
	caagataaag	gcacccccga	ttatattcta	taccgatgtg	gattgcgcat	actttgtgaa	5897
	cagaaagtga	tagcgttgat	gattcttcat	tggtcagaaa	attatgaacg	gtttcttcta	5957
35	ttttgtctct	atatactacg	tataggaaat	gtttacattt	tcgatttggt	ttcgattcac	6017
	tctatgaata	gttcttacta	caattttttt	gtctaaagag	taataactaga	gataaacata	6077
40	aaaaatgtag	aggctcgagtt	tagatgcaag	ttcaaggagc	gaaagggtgga	tgggttaggtt	6137
	atatagggat	atagcacaga	gatatatagc	aaagagatac	ttttgagcaa	tgtttggtgga	6197
	agcggtatcc	gcaatgggaa	gctccacccc	ggttgataat	cagaaaagcc	ccaaaaacag	6257
45	gaagattgta	taagcaaata	tttaaattgt	aaacgttaat	attttggttaa	aattcgcggt	6317
	aaatttttgt	taaatcagct	cattttttta	cgaatagccc	gaaatcggca	aatccctta	6377
50	taaatcaaaa	gaatagaccg	agataggggt	gagtgttggt	ccagtttcca	acaagagtcc	6437
	actattaaag	aacgtggact	ccaacgtcaa	agggcgaaaa	agggctctatc	agggcgatgg	6497
	cccactacgt	gaaccatcac	cctaatacaag	ttttttgggg	tcgaggtgoc	gtaaagcagt	6557
55	aaatcggaag	ggtaaacgga	tgccccatt	tagagcttga	cggggaaagc	cggcgaacgt	6617
	ggcgagaaag	gaagggaaga	aagcgaaagg	agcgggggct	agggcggtgg	gaagtgtagg	6677
60	ggtcacgctg	ggcgtaacca	ccacaccgcg	cgcgcttaat	ggggcgctac	agggcgcgctg	6737
	gggatgatcc	actagt					6753
65	<210>	56					
	<211>	295					
	<212>	PRT					
70	<213>	Oncorhynchus mykiss					

91

<400> 56

5	Met 1	Glu	Thr	Phe 5	Asn	Tyr	Lys	Leu	Asn	Met 10	Tyr	Ile	Asp	Ser	Trp 15	Met
10	Gly	Pro	Arg	Asp 20	Glu	Arg	Val	Gln	Gly 25	Trp	Leu	Leu	Leu	Asp 30	Asn	Tyr
15	Pro	Pro	Thr 35	Phe	Ala	Leu	Thr	Val 40	Met	Tyr	Leu	Leu	Ile 45	Val	Trp	Met
20	Gly	Pro	Lys	Tyr	Met	Arg	His 55	Arg	Gln	Pro	Val	Ser 60	Cys	Arg	Gly	Leu
25	Leu 65	Leu	Val	Tyr	Asn 70	Leu	Gly	Leu	Thr	Ile	Leu 75	Ser	Phe	Tyr	Met	Phe 80
30	Tyr	Glu	Met	Val 85	Ser	Ala	Val	Trp	His	Gly 90	Asp	Tyr	Asn	Phe	Phe 95	Cys
35	Gln	Asp	Thr	His 100	Ser	Ala	Gly	Glu	Thr 105	Asp	Thr	Lys	Ile	Ile 110	Asn	Val
40	Leu	Trp	Trp 115	Tyr	Tyr	Phe	Ser	Lys 120	Leu	Ile	Glu	Phe	Met 125	Asp	Thr	Phe
45	Phe 130	Phe	Ile	Leu	Arg	Lys	Asn 135	Asn	His	Gln	Ile	Thr 140	Phe	Leu	His	Ile
50	Tyr 145	His	His	Ala	Ser 150	Met	Leu	Asn	Ile	Trp	Trp 155	Phe	Val	Met	Asn	Trp 160
55	Val	Pro	Cys	Gly	His 165	Ser	Tyr	Phe	Gly	Ala 170	Ser	Leu	Asn	Ser	Phe 175	Ile
60	His	Val	Leu	Met 180	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly 185	Leu	Ser	Ala	Val	Pro 190	Ala	Leu
65	Arg	Pro	Tyr 195	Leu	Trp	Trp	Lys	Lys 200	Tyr	Ile	Thr	Gln	Val 205	Gln	Leu	Ile
70	Gln	Phe	Phe	Leu	Thr	Met	Ser 215	Gln	Thr	Ile	Cys	Ala	Val	Ile	Trp	Pro
	Cys 225	Asp	Phe	Pro	Arg	Gly 230	Trp	Leu	Tyr	Phe	Gln 235	Ile	Phe	Tyr	Val	Ile 240
	Thr	Leu	Ile	Ala	Leu	Phe	Ser	Asn	Phe	Tyr 250	Ile	Gln	Thr	Tyr	Lys 255	Lys
	His	Leu	Val	Ser 260	Gln	Lys	Lys	Glu	Tyr 265	His	Gln	Asn	Gly	Ser 270	Val	Ala
	Ser	Leu	Asn 275	Gly	His	Val	Asn	Gly 280	Val	Thr	Pro	Thr	Glu 285	Thr	Ile	Thr

His Arg Lys Val Arg Gly Asp
290 295

5
<210> 57
<211> 6645
10 <212> DNA
<213> *Oncorhynchus mykiss*
15
<220>
<221> CDS
20 <222> (513)..(1304)
<223> Delta-5-Elongase
25
<400> 57
acggattaga agccgcccag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60
cctcgtcctc accggtcgcg ttctgaaac gcagatgtgc ctgcgcgccg actgctccga 120
30 acaataaaga ttctacaata ctagctttta tggttatgaa gaggaataat tggcagtaac 180
ctggcccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240
35 ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat 300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcatt aaccacttta actaatactt tcaacatttt 360
40 cggttttgtat tacttcttat tcaaagttaa taaaagtatc aacaaaaaat tgtaatatata 420
cctctatact ttaacgtcaa ggagaaaaaa ccccgatcg gactactagc agctgtaata 480
cgactcacta tagggaatat taagcttaca ta atg gct tca aca tgg caa agc 533
45 Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser
1 5
gtt cag tcc atg cgc cag tgg att tta gag aat gga gat aaa agg aca 581
Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr
10 15 20
50 gac cca tgg cta ctg gtc tac tcc cct atg cca gtg gcc att ata ttc 629
Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro Met Pro Val Ala Ile Ile Phe
25 30 35
55 ctc ctc tat ctt ggt gtg gtc tgg gct ggg ccc aag ctg atg aaa cgc 677
Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg
40 45 50 55
60 agg gaa cca gtt gat ctc aag gct gta ctc att gtc tac aac ttc gcc 725
Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala
60 65 70
atg gtc tgc ctg tct gtc tac atg ttc cat gag ttc ttg gtc acg tcc 773
Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe His Glu Phe Leu Val Thr Ser
75 80 85
65 ttg ctg tct aac tac agt tac ctg tgt caa cct gtg gat tac agc act 821
Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr
90 95 100
70 agt cca ctg gcg atg agg atg gcc aaa gta tgc tgg tgg ttt ttc ttc 869
Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe
105 110 115

93

5	tcc aag gtc ata gaa ttg gct gac acg gtg ttc ttc atc ctg agg aag	917
	Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys	
	120 125 130 135	
10	aag aac agt cag ctg act ttc ctg cat gtc tat cac cat ggc acc atg	965
	Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His Val Tyr His His Gly Thr Met	
	140 145 150	
15	atc ttc aac tgg tgg gca ggg gtc aag tat ctg gct gga ggc caa tcg	1013
	Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser	
	155 160 165	
20	ttc ttc atc ggc ctg ctc aat acc ttt gtg cac atc gtg atg tac tct	1061
	Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe Val His Ile Val Met Tyr Ser	
	170 175 180	
25	tac tac gga ctg gct gcc ctg ggg cct cac acg cag aag tac tta tgg	1109
	Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp	
	185 190 195	
30	tgg aag cgc tat ctg acc tca ctg cag ctg ctc cag ttt gtc ctg ttg	1157
	Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu	
	200 205 210 215	
35	acc act cac act ggc tac aac ctc ttc act gag tgt gac ttc ccg gac	1205
	Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp	
	220 225 230	
40	tcc atg aac gct gtg gtg ttt gcc tac tgt gtc agt ctc att gct ctc	1253
	Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu	
	235 240 245	
45	ttc agc aac ttc tac tat cag agc tac ctc aac agg aag agc aag aag	1301
	Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys	
	250 255 260	
50	aca taaggatcca ctagtaacgg ccgccagtgt gctggaattc tgcagatata	1354
	Thr	
55	catcacactg gcggccgctc gagcatgcat ctagagggcc gcatcatgta attagttatg	1414
	tcacgcttac attcacgccc tccccccaca tccgctctaa ccgaaaagga aggagttaga	1474
60	caacctgaag tctaggtccc tatttatattt tttatagtta tgttagtatt aagaacgtta	1534
	tttatatttc aaatttttct tttttttctg tacagacgcg tgtacgcatg taacattata	1594
65	ctgaaaacct tgcttgagaa ggttttgagg cgctcgaagg ctttaatttg cggccctgca	1654
	ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgctt attgggctgt cttccgcttc	1714
70	ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt tcggctgcgg cgagcgggtat cagctcactc	1774
	aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc	1834
75	aaaaggccag caaaagccca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag	1894
	gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc	1954
80	gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc tocctogtgc gctctcctgt	2014
	tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct	2074
85	ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag ttccggtgtag gtogttcgct ccaagctggg	2134
	ctgtgtgcac gaaccccccg ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct	2194
90	tgagtccaac ccggttaagac acgacttata gccactggca gcagccactg gtaacaggat	2254
	tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac agagttcttg aagtgggtggc ctaactacgg	2314

94

	ctacactaga	aggacagtat	ttggtatctg	cgctctgctg	aagccagtta	ccttcggaaa	2374
	aagagttggt	agctcttgat	cgggcaaaaca	aaccaccgct	ggtagcgggtg	gtttttttgt	2434
5	ttgcaagcag	cagattacgc	gcagaaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	tgatcttttc	2494
	tacgggggtct	gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	tcatgagatt	2554
10	atcaaaaaagg	atottcacct	agatcctttt	aaattaaaaa	tgaagtttta	aatcaatcta	2614
	aagtatatat	gagtaaactt	ggctctgacag	ttaccaatgc	ttaatcagtg	aggcacctat	2674
	ctcagcgatc	tgtctatttc	gttcatccat	agttgcctga	ctccccgctg	tgtagataac	2734
15	tacgatacgg	gagcgcttac	catctggccc	cagtgcctga	atgataccgc	gagaccacgc	2794
	ctcaccggct	ccagatttat	cagcaataaa	ccagccagcc	ggaagggccg	agcgcagaag	2854
20	tggtcctgca	actttatccg	cctccattca	gtctattaat	tgttgccggg	aagctagagt	2914
	aagtagttcg	ccagttaata	gtttgcgcaa	cgttgttggc	attgctacag	gcatcgtggt	2974
	gtcactctcg	tcgtttggta	tggtctcatt	cagctccggt	tccaacgat	caaggcgagt	3034
25	tacatgatcc	cccatgttgt	gcaaaaaagc	ggttagctcc	ttcggtcctc	cgatcgttgt	3094
	cagaagtaag	ttggccgcag	tggtatcact	catggttatg	gcagcactgc	ataattctct	3154
30	tactgtcatg	ccatccgtaa	gatgcttttc	tgtgactggt	gagtactcaa	ccaagtcatt	3214
	ctgagaatag	tgtatgcggc	gaccgagttg	ctcttgcccc	gcgtcaatac	gggataatag	3274
	tgtatcacat	agcagaactt	taaaagtgc	catcattgga	aaacgttctt	cggggcgaaa	3334
35	actctcaagg	atcttaccgc	tggttagatc	cagttcgatg	taaccacctc	gtgcacccaa	3394
	ctgatcttca	gcatctttta	ctttcaccag	cgtttctggg	tgagcaaaaa	caggaaggca	3454
40	aaatgccgca	aaaaagggaa	taagggcgac	acggaaatgt	tgaatactca	tactcttcct	3514
	ttttcaatgg	gtaataactg	atataattaa	attgaagctc	taattttgtg	gtttagtata	3574
	catgcattta	cttataatac	agtttttttag	ttttgctggc	cgcactcttct	caaatatgct	3634
45	tcccagcctg	cttttctgta	acgttcaccc	tctaccttag	catcccttcc	ctttgcaaat	3694
	agtcctcttc	caacaataat	aatgtcagat	cctgtagaga	ccacatcatc	cacggttcta	3754
50	tactgttgac	ccaatgcgtc	tcccttgta	tctaaaccca	caccgggtgt	cataatcaac	3814
	caatcgtaac	cttcatctct	tccacccatg	tctctttgag	caataaagcc	gataacaaaa	3874
	tctttgtgc	tcttcgcaat	gtcaacagta	cccttagtat	attctccagt	agatagggag	3934
55	cccttgcatg	acaattctgc	taacatcaaa	aggcctctag	gttcctttgt	tacttcttct	3994
	gccgcctgct	tcaaaccgct	aacaatacct	gggccaccca	caccgtgtgc	attcgtaatg	4054
60	tctgcccatt	ctgctattct	gtatacacc	gcagagtact	gcaatttgac	tgtattacca	4114
	atgtcagcaa	atcttctgtc	ttcgaagagt	aaaaaattgt	acttgccgga	taatgccttt	4174
	agcggcttaa	ctgtgccctc	catggaaaaa	tcagtcaaga	tatccacatg	tgtttttagt	4234
65	aaacaaat	ttggacctaa	tgcttcaact	aactccagta	attccttggt	ggtagcaaca	4294
	tccaatgaag	cacacaagtt	tgtttgcttt	tcgtgcatga	tattaaatag	cttggcagca	4354
70	acaggactag	gatgagtagc	agcacgttcc	ttatatgtag	ctttcgacat	gatttatctt	4414
	cgtttcctgc	aggtttttgt	tctgtgcagt	tgggttaaga	atactgggca	atttcatggt	4474
	tcttcaacac	tacatagcgc	tatatatacc	aatctaagtc	tgtgctcctt	ccttcgttct	4534

5 tccttctgtt cggagattac cgaatcaaaa aaattttcaa gaaaccgaaa tcaaaaaaaaa 4594
gaataaaaaa aaaatgatga attgaattga aaagctagct tatcgatgat aagctgtcaa 4654
agatgagaat taattccacg gactatagac tatactagat actccgtcta ctgtacgata 4714
cacttccgct caggtccttg tcctttaacg aggccttacc actcttttgt tactctattg 4774
10 atccagctca gcaaaggcag tgtgatctaa gattctatct tcgcgatgta gtaaaactag 4834
ctagaccgag aaagagacta gaaatgcaaa aggcacttct acaatggctg ccatcattat 4894
15 tatccgatgt gacgctgcag cttctcaatg atattcgaat acgctttgag gagatacagc 4954
ctaatatccg acaaactgtt ttacagattt acgatcgtac ttgttacctt tcattgaatt 5014
ttgaacatcc gaacctggga gttttccctg aaacagatag tatatttgaa cctgtataat 5074
20 aatatatagt ctagcgcttt acggaagaca atgtatgtat ttcggttcct ggagaaacta 5134
ttgcatctat tgcataaggta atcttgcacg tcgcatcccc ggttcatttt ctgcgtttcc 5194
25 atcttgcact tcaatagcat atctttgtta acgaagcatc tgtgcttcat tttgtagaac 5254
aaaaatgcaa cgcgagagcg ctaatttttc aaacaaagaa tctgagctgc atttttacag 5314
aacagaaatg caacgcgaaa gcgctatttt accaacgaag aatctgtgct tcatttttgt 5374
30 aaaacaaaa tgcaacgcga cgagagcgct aattttttcaa acaaagaatc tgagctgcat 5434
ttttacagaa cagaaatgca acgcgagagc gctatttttac caacaaagaa tctatacttc 5494
35 tttttgttc taaaaaatg catcccgaga gcgctatttt tctaacaaag catcttagat 5554
tacttttttt ctcttttgtg cgctctataa tgcagtctct tgataacttt ttgcaactgta 5614
ggctccgttaa ggtagaaga aggctacttt ggtgtctatt ttctcttcca taaaaaagc 5674
40 ctgactccac ttcccgctt tactgattac tagcgaagct gcgggtgcat tttttcaaga 5734
taaaggcatc cccgattata ttctataccg atgtggattg cgcatacttt gtgaacagaa 5794
45 agtgatagcg ttgatgattc ttcatggtc agaaaattat gaacggtttc ttctattttg 5854
tctctatata ctacgtatag gaaatgttta ctttttcgta ttgttttoga ttactctat 5914
gaatagttct tactacaatt tttttgtcta aagagtaata ctagagataa acataaaaaa 5974
50 tgtagaggtc gagtttagat gcaagttcaa ggagcgaaag gtggatgggt aggttatata 6034
gggatatagc acagagatat atagcaaaga gatacttttg agcaatgttt gtggaagcgg 6094
55 tattcgcaat gggaagctcc accccggttg ataatcagaa aagccccaaa aacaggaaga 6154
ttgtataagc aaatatttaa attgtaaacg ttaatatattt gttaaaattc gcgttaaatt 6214
tttgttaaat cagctcattt tttaacgaat agcccgaaat cggcaaaatc ccttataaat 6274
60 caaaagaata gaccgagata gggttgagtg ttgttccagt ttccaacaag agtccactat 6334
taaagaacgt ggactccaac gtcaaagggc gaaaaagggc ctatcagggc gatggccac 6394
65 tacgtgaacc atcacctaa tcaagttttt tggggtcgag gtgccgtaaa gcagtaaattc 6454
ggaagggtaa acggatgcc ccatttagag cttgacgggg aaagccggcg aacgtggcga 6514
gaaaggaagg gaagaaagcg aaaggagcgg gggctagggc ggtgggaagt gtaggggtca 6574
70 cgctgggcgt aaccaccaca cccgccgcgc ttaatggggc gctacagggc gcgtggggat 6634
gatccactag t 6645

5 <210> 58
 <211> 264
 <212> PRT
 <213> Oncorhynchus mykiss
 10
 <400> 58
 15 Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu
 1 5 10 15
 20 Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro
 20 25 30
 25 Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala
 35 40 45
 25 Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val
 50 55 60
 30 Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe
 65 70 75 80
 35 His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys
 85 90 95
 40 Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys
 100 105 110
 45 Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr
 115 120 125
 50 Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His
 130 135 140
 55 Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys
 145 150 155 160
 60 Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe
 165 170 175
 65 Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro
 180 185 190
 70 His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln
 195 200 205
 75 Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe
 210 215 220
 80 Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr
 225 230 235 240

97

Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr
 245 250 255

5 Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr
 260

10 <210> 59
 <211> 1077
 <212> DNA

15 <213> *Thalassiosira pseudonana*

20 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1077)

25 <223> Delta-5-Elongase

30 <400> 59
 atg tgc tca tca ccg ccg tca caa tcc aaa aca aca tcc ctc cta gca 48
 Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala
 1 5 10 15

35 cgg tac acc acc gcc gcc ctc ctc ctc ctc acc ctc aca aca tgg tgc 96
 Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys
 20 25 30

40 cac ttc gcc ttc cca gcc gcc acc gcc aca ccc ggc ctc acc gcc gaa 144
 His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu
 35 40 45

45 atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 192
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 50 55 60

50 agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 240
 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 65 70 75 80

55 tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 288
 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 85 90 95

60 gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg 336
 Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
 100 105 110

65 gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg 384
 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
 115 120 125

70 gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt 432
 Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
 130 135 140

gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg 480
 Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
 145 150 155 160

aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata 528
 Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
 165 170 175

98

	gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att	576
	Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile	
	180 185 190	
5	tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc	624
	Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser	
	195 200 205	
10	tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac	672
	Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr	
	210 215 220	
15	ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg	720
	Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr	
	225 230 235 240	
20	ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat	768
	Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp	
	245 250 255	
25	gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag	816
	Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln	
	260 265 270	
30	gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa	864
	Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys	
	275 280 285	
35	cga tcc tat tcc aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag	912
	Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys	
	290 295 300	
40	aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat	960
	Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp	
	305 310 315 320	
45	ata tcc gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct	1008
	Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala	
	325 330 335	
50	gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act	1056
	Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr	
	340 345 350	
55	cgt gtt act ggt gcc atg tag	1077
	Arg Val Thr Gly Ala Met	
	355	
60	<210> 60	
	<211> 358	
	<212> PRT	
65	<213> Thalassiosira pseudonana	
70	<400> 60	
	Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala	
	1 5 10 15	
	Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys	
	20 25 30	
	His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu	
	35 40 45	

99

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
50 55 60

5 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
65 70 75 80

10 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
85 90 95

15 Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
100 105 110

20 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
115 120 125

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
130 135 140

25 Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
145 150 155 160

30 Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
165 170 175

35 Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
180 185 190

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
195 200 205

40 Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
210 215 220

45 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
225 230 235 240

50 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
245 250 255

Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
260 265 270

55 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
275 280 285

60 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
290 295 300

65 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
305 310 315 320

70 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
325 330 335

Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr

100

340

345

350

5 Arg Val Thr Gly Ala Met
355

<210> 61

10 <211> 933

<212> DNA

15 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

20 <221> CDS

<222> (1)..(933)

25 <223> Delta-5-Elongase

<400> 61

30 atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 48
Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
1 5 10 15

35 agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 96
Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
20 25 30

40 tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 144
Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
35 40 45

gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg 192
Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
50 55 60

45 gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg 240
Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
65 70 75 80

50 gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt 288
Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
85 90 95

55 gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg 336
Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
100 105 110

60 aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata 384
Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
115 120 125

gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att 432
Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
130 135 140

65 tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc 480
Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
145 150 155 160

70 tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac 528
Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
165 170 175

ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg 576

101

	Leu	Thr	Gln	Ala	Gln	Leu	Leu	Gln	Phe	Thr	Ser	Val	Val	Val	Tyr	Thr	
				180					185						190		
5	ggg	tgt	acg	ggt	tat	act	cat	tac	tat	cat	acg	aag	cat	gga	gcg	gat	624
	Gly	Cys	Thr	Gly	Tyr	Thr	His	Tyr	Tyr	His	Thr	Lys	His	Gly	Ala	Asp	
			195					200					205				
10	gag	aca	cag	cct	agt	tta	gga	acg	tat	tat	ttc	tgt	tgt	gga	gtg	cag	672
	Glu	Thr	Gln	Pro	Ser	Leu	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Phe	Cys	Cys	Gly	Val	Gln	
		210					215					220					
15	gtg	ttt	gag	atg	gtt	agt	ttg	ttt	gta	ctc	ttt	tcc	atc	ttt	tat	aaa	720
	Val	Phe	Glu	Met	Val	Ser	Leu	Phe	Val	Leu	Phe	Ser	Ile	Phe	Tyr	Lys	
		225				230					235					240	
20	cga	tcc	tat	tcg	aag	aag	aac	aag	tca	gga	gga	aag	gat	agc	aag	aag	768
	Arg	Ser	Tyr	Ser	Lys	Lys	Asn	Lys	Ser	Gly	Gly	Lys	Asp	Ser	Lys	Lys	
					245					250					255		
25	aat	gat	gat	ggg	aat	aat	gag	gat	caa	tgt	cac	aag	gct	atg	aag	gat	816
	Asn	Asp	Asp	Gly	Asn	Asn	Glu	Asp	Gln	Cys	His	Lys	Ala	Met	Lys	Asp	
				260					265					270			
30	ata	tcg	gag	ggt	gcg	aag	gag	gtt	gtg	ggg	cat	gca	gcg	aag	gat	gct	864
	Ile	Ser	Glu	Gly	Ala	Lys	Glu	Val	Val	Gly	His	Ala	Ala	Lys	Asp	Ala	
			275				280						285				
35	gga	aag	ttg	gtg	gct	acg	gcg	agt	aag	gct	gta	aag	agg	aag	gga	act	912
	Gly	Lys	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Ser	Lys	Ala	Val	Lys	Arg	Lys	Gly	Thr	
		290					295					300					
40	cgt	gtt	act	ggt	gcc	atg	tag										933
	Arg	Val	Thr	Gly	Ala	Met											
		305				310											
45	<210>	62															
50	<211>	310															
	<212>	PRT															
	<213>	Thalassiosira pseudonana															
55	<400>	62															
60	Met	His	Ser	Tyr	Lys	Val	Pro	Leu	Gly	Leu	Thr	Val	Phe	Tyr	Leu	Leu	
	1				5					10					15		
65	Ser	Leu	Pro	Ser	Leu	Lys	Tyr	Val	Thr	Asp	Asn	Tyr	Leu	Ala	Lys	Lys	
			20						25					30			
70	Tyr	Asp	Met	Lys	Ser	Leu	Leu	Thr	Glu	Ser	Met	Val	Leu	Tyr	Asn	Val	
			35					40					45				
75	Ala	Gln	Val	Leu	Leu	Asn	Gly	Trp	Thr	Val	Tyr	Ala	Ile	Val	Asp	Ala	
		50				55						60					
80	Val	Met	Asn	Arg	Asp	His	Pro	Phe	Ile	Gly	Ser	Arg	Ser	Leu	Val	Gly	
	65					70					75					80	
85	Ala	Ala	Leu	His	Ser	Gly	Ser	Ser	Tyr	Ala	Val	Trp	Val	His	Tyr	Cys	
					85					90					95		
90	Asp	Lys	Tyr	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Thr	Tyr	Phe	Met	Val	Leu	Arg	Gly	

102

	100	105	110
5	Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile 115 120 125		
10	Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile 130 135 140		
15	Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser 145 150 155 160		
20	Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr 165 170 175		
25	Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr 180 185 190		
30	Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp 195 200 205		
35	Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln 210 215 220		
40	Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys 225 230 235 240		
45	Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys 245 250 255		
50	Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp 260 265 270		
55	Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala 275 280 285		
60	Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr 290 295 300		
65	Arg Val Thr Gly Ala Met 305 310		
70	<210> 63 <211> 933 <212> DNA <213> Thalassiosira pseudonana <220> <221> CDS <222> (1)..(933) <223> Delta-5-Elongase		

103

<400> 63
 5 atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 48
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 1 5 10

10 agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 96
 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 20 30

15 tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 144
 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 35 40 45

20 gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg 192
 Ala Gln Val Leu Leu Asn Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
 50 55 60

25 gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg 240
 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
 65 70 75 80

30 gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt 288
 Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
 85 90 95

35 gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg 336
 Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
 100 105 110

40 aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac acg acc ata 384
 Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
 115 120 125

45 gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att 432
 Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
 130 135 140

50 tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc 480
 Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
 145 150 155 160

55 tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac 528
 Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
 165 170 175

60 ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg 576
 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
 180 185 190

65 ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat 624
 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
 195 200 205

70 gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag 672
 Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
 210 215 220

75 gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa 720
 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
 225 230 235 240

80 cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag 768
 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
 245 250 255

85 aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat 816
 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
 260 265 270

90 ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct 864
 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala

104

	275		280		285	
	gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act					912
5	Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr					
	290		295		300	
	cgt gtt act ggt gcc atg tag					933
	Arg Val Thr Gly Ala Met					
10	305		310			
	<210> 64					
	<211> 310					
15	<212> PRT					
	<213> Thalassiosira pseudonana					
20	<400> 64					
25	Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu					
	1		5		10	15
	Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys					
30			20		25	30
	Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val					
	35		40		45	
35	Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala					
	50		55		60	
40	Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly					
	65		70		75	80
45	Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys					
			85		90	95
50	Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly					
			100		105	110
	Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile					
			115		120	125
55	Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile					
			130		135	140
60	Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser					
			145		150	155
65	Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr					
			165		170	175
70	Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr					
			180		185	190
	Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp					
			195		200	205

105

5	Glu	Thr	Gln	Pro	Ser	Leu	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Phe	Cys	Cys	Gly	Val	Gln	
	210						215					220					
10	Val	Phe	Glu	Met	Val	Ser	Leu	Phe	Val	Leu	Phe	Ser	Ile	Phe	Tyr	Lys	
	225					230					235					240	
15	Arg	Ser	Tyr	Ser	Lys	Lys	Asn	Lys	Ser	Gly	Gly	Lys	Asp	Ser	Lys	Lys	
					245					250					255		
20	Asn	Asp	Asp	Gly	Asn	Asn	Glu	Asp	Gln	Cys	His	Lys	Ala	Met	Lys	Asp	
				260					265					270			
25	Ile	Ser	Glu	Gly	Ala	Lys	Glu	Val	Val	Gly	His	Ala	Ala	Lys	Asp	Ala	
			275					280					285				
30	Gly	Lys	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Ser	Lys	Ala	Val	Lys	Arg	Lys	Gly	Thr	
	290						295					300					
35	Arg	Val	Thr	Gly	Ala	Met											
	305					310											
40	<210>	65															
	<211>	825															
45	<212>	DNA															
	<213>	Thraustochytrium aureum															
50	<220>																
	<221>	CDS															
55	<222>	(1)..(825)															
	<223>	Delta-5-Elongase															
60	<400>	65															
	atg	acg	agc	aac	atg	agc	gcg	tgg	ggc	gtc	gcc	gtc	gac	cag	acg	cag	48
	Met	Thr	Ser	Asn	Met	Ser	Ala	Trp	Gly	Val	Ala	Val	Asp	Gln	Thr	Gln	
	1				5					10				15			
65	cag	gtc	gtc	gac	cag	atc	atg	ggc	ggc	gcc	gag	ccg	tac	aag	ctg	aca	96
	Gln	Val	Val	Asp	Gln	Ile	Met	Gly	Gly	Ala	Glu	Pro	Tyr	Lys	Leu	Thr	
				20				25					30				
70	gaa	ggg	cgc	atg	acg	aac	gtc	gag	acg	atg	ctg	gcg	atc	gag	tgc	ggc	144
	Glu	Gly	Arg	Met	Thr	Asn	Val	Glu	Thr	Met	Leu	Ala	Ile	Glu	Cys	Gly	
			35					40				45					
75	tac	gcc	gcc	atg	ctg	ctg	ttc	ctg	acc	ccg	atc	atg	aag	cag	gcc	gag	192
	Tyr	Ala	Ala	Met	Leu	Leu	Phe	Leu	Thr	Pro	Ile	Met	Lys	Gln	Ala	Glu	
		50					55				60						
80	aag	ccc	ttc	gag	ctc	aag	tcc	ttc	aag	ctc	gcc	cac	aac	ctg	ttc	ctg	240
	Lys	Pro	Phe	Glu	Leu	Lys	Ser	Phe	Lys	Leu	Ala	His	Asn	Leu	Phe	Leu	
	65					70					75				80		
85	ttc	gtc	ctg	tcc	gcc	tac	atg	tgc	ctc	gag	acc	gtc	cgc	cag	gcc	tac	288
	Phe	Val	Leu	Ser	Ala	Tyr	Met	Cys	Leu	Glu	Thr	Val	Arg	Gln	Ala	Tyr	

106

	85	90	95	
5	ctt gcg ggc tac tgc gtg ttc ggc aac gac atg gag aag ggc agc gag Leu Ala Gly Tyr Ser Val Phe Gly Asn Asp Met Glu Lys Gly Ser Glu 100 105 110	336		
10	ccg cac gcg cac ggc atg gcc caa atc gtg tgg atc ttt tac gtg tcc Pro His Ala His Gly Met Ala Gln Ile Val Trp Ile Phe Tyr Val Ser 115 120 125	384		
15	aag gcg tac gag ttc gtg gac acg ctg atc atg atc ctg tgc aaa aag Lys Ala Tyr Glu Phe Val Asp Thr Leu Ile Met Ile Leu Cys Lys Lys 130 135 140	432		
20	ttc aac cag gtc tcc gtc ctg cac gtg tac cac cac gcc acc atc ttt Phe Asn Gln Val Ser Leu His Val Tyr His His Ala Thr Ile Phe 145 150 155	480		
25	gct atc tgg ttt atg atc gcc aag tac gcc ccg ggc ggc gac gca tac Ala Ile Trp Phe Met Ile Ala Lys Tyr Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr 165 170 175	528		
30	ttt agc gtc atc ctg aac tgc ttc gtg cac acc gtc atg tac gcg tac Phe Ser Val Ile Leu Asn Ser Phe Val His Thr Val Met Tyr Ala Tyr 180 185 190	576		
35	tac ttc ttc tgc tgc cag ggc ttc ggg ttc gtc aag ccg atc aag ccg Tyr Phe Phe Ser Ser Gln Gly Phe Gly Phe Val Lys Pro Ile Lys Pro 195 200 205	624		
40	tac atc acc tgc ctg cag atg acg cag ttc atg gcg atg ctc gtg cag Tyr Ile Thr Ser Leu Gln Met Thr Gln Phe Met Ala Met Leu Val Gln 210 215 220	672		
45	tgc ctg tac gac tac ctt tac ccg tgc gac tac ccg cag ggc ctc gtc Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Tyr Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Gly Leu Val 225 230 235	720		
50	aag ctc ctc ggc gtg tac atg ctc acc ctg ctt gcg ctc ttc ggc aac Lys Leu Leu Gly Val Tyr Met Leu Thr Leu Leu Ala Leu Phe Gly Asn 245 250 255	768		
55	ttt ttc gtg cag agc tac ctc aag aag tgc aac aag ccc aag gcc aag Phe Phe Val Gln Ser Tyr Leu Lys Lys Ser Asn Lys Pro Lys Ala Lys 260 265 270	816		
60	tgc gcc taa Ser Ala	825		
65	<210> 66			
70	<211> 274			
	<212> PRT			
	<213> Thraustochytrium aureum			
	<400> 66			
65	Met Thr Ser Asn Met Ser Ala Trp Gly Val Ala Val Asp Gln Thr Gln 1 5 10 15			
70	Gln Val Val Asp Gln Ile Met Gly Gly Ala Glu Pro Tyr Lys Leu Thr 20 25 30			
	Glu Gly Arg Met Thr Asn Val Glu Thr Met Leu Ala Ile Glu Cys Gly 35 40 45			

107

5 Tyr Ala Ala Met Leu Leu Phe Leu Thr Pro Ile Met Lys Gln Ala Glu
50 55 60

10 Lys Pro Phe Glu Leu Lys Ser Phe Lys Leu Ala His Asn Leu Phe Leu
65 70 75 80

15 Phe Val Leu Ser Ala Tyr Met Cys Leu Glu Thr Val Arg Gln Ala Tyr
85 90 95

20 Leu Ala Gly Tyr Ser Val Phe Gly Asn Asp Met Glu Lys Gly Ser Glu
100 105 110

25 Pro His Ala His Gly Met Ala Gln Ile Val Trp Ile Phe Tyr Val Ser
115 120 125

30 Lys Ala Tyr Glu Phe Val Asp Thr Leu Ile Met Ile Leu Cys Lys Lys
130 135 140

35 Phe Asn Gln Val Ser Val Leu His Val Tyr His His Ala Thr Ile Phe
145 150 155 160

40 Ala Ile Trp Phe Met Ile Ala Lys Tyr Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr
165 170 175

45 Phe Ser Val Ile Leu Asn Ser Phe Val His Thr Val Met Tyr Ala Tyr
180 185 190

50 Tyr Phe Phe Ser Ser Gln Gly Phe Gly Phe Val Lys Pro Ile Lys Pro
195 200 205

55 Tyr Ile Thr Ser Leu Gln Met Thr Gln Phe Met Ala Met Leu Val Gln
210 215 220

60 Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Tyr Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Gly Leu Val
225 230 235 240

65 Lys Leu Leu Gly Val Tyr Met Leu Thr Leu Leu Ala Leu Phe Gly Asn
245 250 255

70 Phe Phe Val Gln Ser Tyr Leu Lys Lys Ser Asn Lys Pro Lys Ala Lys
260 265 270

60 Ser Ala

<210> 67

65 <211> 903

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

108

<220>

<221> CDS

5 <222> (1)..(903)

<223> Delta-5-Elongase

10

<400> 67

atg	agc	gcc	tcc	ggt	gcg	ctg	ctg	ccc	gcg	atc	gcg	ttc	gcc	gcg	tac	48
Met	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Phe	Ala	Ala	Tyr	
1				5					10					15		

15

gcg	tac	gcg	acg	tac	gcc	tac	gcc	ttt	gag	tgg	tcg	cac	gcg	aat	ggc	96
Ala	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Phe	Glu	Trp	Ser	His	Ala	Asn	Gly	
			20					25					30			

20

atc	gac	aac	gtc	gac	gcg	cgc	gag	tgg	atc	ggt	gcg	ctg	tcg	ttg	agg	144
Ile	Asp	Asn	Val	Asp	Ala	Arg	Glu	Trp	Ile	Gly	Ala	Leu	Ser	Leu	Arg	
		35					40					45				

25

ctc	ccg	gcg	atc	gcg	acg	acg	atg	tac	ctg	ttg	ttc	tgc	ctg	gtc	gga	192
Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Thr	Thr	Met	Tyr	Leu	Leu	Phe	Cys	Leu	Val	Gly	
	50					55					60					

30

ccg	agg	ttg	atg	gcg	aag	cgc	gag	gcg	ttc	gac	ccg	aag	ggg	ttc	atg	240
Pro	Arg	Leu	Met	Ala	Lys	Arg	Glu	Ala	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Phe	Met	
65					70					75					80	

35

ctg	gcg	tac	aat	gcg	tat	cag	acg	gcg	ttc	aac	gtc	gtc	gtg	ctc	ggg	288
Leu	Ala	Tyr	Asn	Ala	Tyr	Gln	Thr	Ala	Phe	Asn	Val	Val	Val	Leu	Gly	
				85					90					95		

40

atg	ttc	gcg	cga	gag	atc	tcg	ggg	ctg	ggg	cag	ccc	gtg	tgg	ggg	tca	336
Met	Phe	Ala	Arg	Glu	Ile	Ser	Gly	Leu	Gly	Gln	Pro	Val	Trp	Gly	Ser	
			100					105					110			

45

acc	atg	ccg	tgg	agc	gat	aga	aaa	tcg	ttt	aag	atc	ctc	ctc	ggg	gtg	384
Thr	Met	Pro	Trp	Ser	Asp	Arg	Lys	Ser	Phe	Lys	Ile	Leu	Leu	Gly	Val	
		115					120					125				

50

tgg	ttg	cac	tac	aac	aac	caa	tat	ttg	gag	cta	ttg	gac	act	gtg	ttc	432
Trp	Leu	His	Tyr	Asn	Asn	Gln	Tyr	Leu	Glu	Leu	Leu	Asp	Thr	Val	Phe	
	130					135					140					

55

atg	gtt	gcg	cgc	aag	aag	acg	aag	cag	ttg	agc	ttc	ttg	cac	gtt	tat	480
Met	Val	Ala	Arg	Lys	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	
	145				150					155					160	

60

cat	cac	gcc	ctg	ttg	atc	tgg	gcg	tgg	tgg	ttg	gtg	tgt	cac	ttg	atg	528
His	His	Ala	Leu	Leu	Ile	Trp	Ala	Trp	Trp	Leu	Val	Cys	His	Leu	Met	
				165					170					175		

65

gcc	acg	aac	gat	tgt	atc	gat	gcc	tac	ttc	ggc	gcg	gcg	tgc	aac	tcg	576
Ala	Thr	Asn	Asp	Cys	Ile	Asp	Ala	Tyr	Phe	Gly	Ala	Ala	Cys	Asn	Ser	
			180					185					190			

70

ttc	att	cac	atc	gtg	atg	tac	tcg	tat	tat	ctc	atg	tcg	gcg	ctc	ggc	624
Phe	Ile	His	Ile	Val	Met	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Leu	Met	Ser	Ala	Leu	Gly	
		195					200					205				

att	cga	tgc	ccg	tgg	aag	cga	tac	atc	acc	cag	gct	caa	atg	ctc	caa	672
Ile	Arg	Cys	Pro	Trp	Lys	Arg	Tyr	Ile	Thr	Gln	Ala	Gln	Met	Leu	Gln	
	210					215					220					

ttc	gtc	att	gtc	ttc	gcg	cac	gcc	gtg	ttc	gtg	ctg	cgt	cag	aag	cac	720
Phe	Val	Ile	Val	Phe	Ala	His	Ala	Val	Phe	Val	Leu	Arg	Gln	Lys	His	
	225				230					235					240	

tgc	ccg	gtc	acc	ctt	cct	tgg	gcg	caa	atg	ttc	gtc	atg	acg	aac	atg	768
Cys	Pro	Val	Thr	Leu	Pro	Trp	Ala	Gln	Met	Phe	Val	Met	Thr	Asn	Met	

109

	245	250	255	
5	ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg	816		
	Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser			
	260 265 270			
10	cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg	864		
	Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala			
	275 280 285			
15	ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa	903		
	Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp			
	290 295 300			
20	<210> 68			
	<211> 300			
	<212> PRT			
	<213> <i>Ostreococcus tauri</i>			
25	<400> 68			
30	Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr			
	1 5 10 15			
35	Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly			
	20 25 30			
40	Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg			
	35 40 45			
45	Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly			
	50 55 60			
50	Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met			
	65 70 75 80			
55	Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly			
	85 90 95			
60	Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser			
	100 105 110			
65	Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val			
	115 120 125			
70	Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe			
	130 135 140			
75	Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr			
	145 150 155 160			
80	His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met			
	165 170 175			
85	Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser			
	180 185 190			

110

5 Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly
 195 200 205
 10 Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
 210 215 220
 15 Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
 225 230 235 240
 20 Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270
 25 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285
 30 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300
 35 <210> 69
 <211> 879
 <212> DNA
 <213> *Ostreococcus tauri*
 40 <220>
 <221> CDS
 45 <222> (1)..(879)
 <223> Delta-6-Elongase
 50 <400> 69
 atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag 48
 Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
 1 5 10 15
 55 tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96
 Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
 20 25 30
 60 cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tgc agt acg gcg cat tta ccc gcc 144
 Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
 35 40 45
 65 att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc 192
 Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
 50 55 60
 70 aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa 240
 Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
 65 70 75 80
 att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg 288
 Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala

111

	85	90	95	
5	ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln 100 105 110			336
10	gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr 115 120 125			384
15	gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile 130 135 140			432
20	tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg 145 150 155 160			480
25	caa gta agt ttc cta cac att tat cac cac agc acg att tcc ttt att Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile 165 170 175			528
30	tgg tgg atc att gct cgg agg gct ccg ggt ggt gat gct tac ttc agc Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser 180 185 190			576
35	gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu 195 200 205			624
40	tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu 210 215 220			672
45	tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe 225 230 235 240			720
50	aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tcg ttc tct acg tat ccc aag Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys 245 250 255			768
55	ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu 260 265 270			816
60	ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln 275 280 285			864
65	aaa aaa cag cag tga Lys Lys Gln Gln 290			879
70	<210> 70 <211> 292 <212> PRT <213> <i>Ostreococcus tauri</i> <400> 70 Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys 1 5 10 15 Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe 20 25 30			

112

5 Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
 35 40 45
 10 Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
 50 55 60
 15 Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
 65 70 75 80
 20 Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln
 100 105 110
 25 Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr
 115 120 125
 30 Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile
 130 135 140
 35 Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg
 145 150 155 160
 40 Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile
 165 170 175
 45 Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
 180 185 190
 50 Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu
 195 200 205
 55 Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu
 210 215 220
 60 Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe
 225 230 235 240
 65 Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
 245 250 255
 70 Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
 260 265 270
 75 Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
 275 280 285
 80 Lys Lys Gln Gln
 290
 <210> 71

113

<211> 1362

<212> DNA

5 <213> *Primula farinosa*

<220>

10 <221> CDS

<222> (1)..(1362)

15 <223> Delta-6-Desaturase

20 <400> 71
 atg gct aac aaa tct cca cca aac ccc aaa aca ggt tac ata acc agc 48
 Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser
 1 5 10 15
 tca gac ctg aaa tcc cac aac aag gca ggt gac cta tgg ata tca atc 96
 Ser Asp Leu Lys Ser His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile
 20 25 30
 cac ggc caa gtc tac gac gtg tcc tct tgg gcc gcc ctt cat ccg ggg 144
 His Gly Gln Val Tyr Asp Val Ser Trp Ala Ala Leu His Pro Gly
 30 35 40 45
 ggc act gcc cct ctc atg gcc ctt gca gga cac gac gtg acc gat gct 192
 Gly Thr Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala
 50 55 60
 ttc ctc gcg tac cat ccc cct tcc act gcc cgt ctc ctc cct cct ctc 240
 Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu
 65 70 75 80
 tct acc aac ctc ctt ctt caa aac cac tcc gtc tcc ccc acc tcc tca 288
 Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser
 85 90 95
 gac tac cgc aaa ctc ctc gac aac ttc cat aaa cat ggc ctt ttc cgc 336
 Asp Tyr Arg Lys Leu Leu Asp Asn Phe His Lys His Gly Leu Phe Arg
 100 105 110
 gcc agg ggc cac act gct tac gcc acc ttc gtc ttc atg ata gcg atg 384
 Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Phe Met Ile Ala Met
 115 120 125
 ttt cta atg agc gtg act gga gtc ctt tgc agc gac agt gcg tgg gtc 432
 Phe Leu Met Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val
 130 135 140
 cat ttg gct agc ggc gga gca atg ggg ttc gcc tgg atc caa tgc gga 480
 His Leu Ala Ser Gly Gly Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly
 145 150 155 160
 tgg ata ggt cac gac tct ggg cat tac cgg att atg tct gac agg aaa 528
 Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys
 165 170 175
 tgg aac tgg ttc gcg caa atc cta agc aca aac tgc ctc cag ggg att 576
 Trp Asn Trp Phe Ala Gln Ile Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile
 180 185 190
 agt atc ggg tgg tgg aag tgg aac cat aat gcg cac cac atc gct tgc 624
 Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys
 195 200 205
 aat agc ctg gat tac gac ccc gac ctc cag tat atc cct ttg ctc gtc 672
 Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val

114

	210	215	220	
5	gtc tcc ccc aag ttc ttc aac tcc ctt act tct cgt ttc tac gac aag Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys 225 230 235 240			720
10	aag ctg aac ttc gac ggc gtg tcg agg ttt ctg gtt tgc tac cag cac Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His 245 250 255			768
15	tgg acg ttt tat ccg gtc atg tgt gtc gct agg ctg aac atg ctc gcg Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Leu Ala 260 265 270			816
20	cag tca ttt ata acg ctt ttc tcg agt agg gag gtg tgc cat agg gcg Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Cys His Arg Ala 275 280 285			864
25	caa gag gtt ttc gga ctt gcc gtg ttt tgg gtt tgg ttt ccg ctt tta Gln Glu Val Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu 290 295 300			912
30	ctt tct tgt tta cct aat tgg ggc gag agg att atg ttt ttg ctt gcg Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala 305 310 315 320			960
35	agc tat tcc gtt acg ggg ata caa cac gtg cag ttc agc ttg aac cat Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His 325 330 335			1008
40	ttt tct tcg gac gtc tat gtg ggc ccg cca gta ggt aat gac tgg ttc Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Gly Asn Asp Trp Phe 340 345 350			1056
45	aag aaa cag act gcc ggg aca ctt aac ata tcg tgc ccg gcg tgg atg Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met 355 360 365			1104
50	gat tgg ttc cat ggc ggg tta cag ttt cag gtc gag cac cac ttg ttt Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe 370 375 380			1152
55	ccg cgg atg cct agg ggt cag ttt agg aag att tct cct ttt gtg agg Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg 385 390 395 400			1200
60	gat ttg tgt aag aaa cac aac ttg cct tac aat atc gcg tct ttt act Asp Leu Cys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr 405 410 415			1248
65	aaa gcg aat gtg ttt acg ctt aag acg ctg aga aat acg gcc att gag Lys Ala Asn Val Phe Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu 420 425 430			1296
70	gct cgg gac ctc tct aat ccg ctc cca aag aat atg gtg tgg gaa gct Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Leu Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala 435 440 445			1344
75	ctt aaa act ctc ggg tga Leu Lys Thr Leu Gly 450			1362
80	<210> 72			
85	<211> 453			
90	<212> PRT			
95	<213> Primula farinosa			

115

<400> 72

5 Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser
 1 5 10 15
 Ser Asp Leu Lys Ser His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile
 20 25 30
 10 His Gly Gln Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Ala Leu His Pro Gly
 35 40 45
 15 Gly Thr Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala
 50 55 60
 20 Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu
 65 70 75 80
 Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser
 85 90 95
 25 Asp Tyr Arg Lys Leu Leu Asp Asn Phe His Lys His Gly Leu Phe Arg
 100 105 110
 30 Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Phe Met Ile Ala Met
 115 120 125
 35 Phe Leu Met Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val
 130 135 140
 40 His Leu Ala Ser Gly Gly Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly
 145 150 155 160
 Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys
 165 170 175
 45 Trp Asn Trp Phe Ala Gln Ile Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile
 180 185 190
 50 Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys
 195 200 205
 55 Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val
 210 215 220
 60 Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys
 225 230 235 240
 Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His
 245 250 255
 65 Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Leu Ala
 260 265 270
 70 Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Cys His Arg Ala
 275 280 285

116

Gln Glu Val Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu
 290 295 300
 5
 Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala
 305 310 315 320
 10
 Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His
 325 330 335
 15
 Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Gly Asn Asp Trp Phe
 340 345 350
 20
 Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met
 355 360 365
 25
 Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe
 370 375 380
 30
 Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg
 385 390 395 400
 35
 Lys Ala Asn Val Phe Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu
 420 425 430
 40
 Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Leu Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala
 435 440 445
 45
 Leu Lys Thr Leu Gly
 450
 50
 <210> 73
 <211> 1362
 <212> DNA
 <213> Primula vialii
 55
 <220>
 <221> CDS
 60
 <222> (1)..(1362)
 <223> Delta-6-Desaturase.
 65
 <400> 73
 atg gct aac aaa tct cca cca aac ccc aaa aca ggt tac att acc agc 48
 Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser
 1 5 10 15
 70
 tca gac ctg aaa ggg cac aac aaa gca gga gac cta tgg ata tca atc 96
 Ser Asp Leu Lys Gly His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile
 20 25 30

117

5	cac ggg gag gta tac gac gtg tcc tgc tgg gcc ggc ctt cac ccg ggg His Gly Glu Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Gly Leu His Pro Gly	144
	35 40 45	
10	ggc agt gcc ccc ctc atg gcc ctc gca gga cac gac gta acc gac gct Gly Ser Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala	192
	50 55 60	
15	ttt cta gcg tat cat cct cct tct acc gcc cgc ctc ctc cct ccc ctc Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu	240
	65 70 75 80	
20	tcc acc aac ctc ctc ctt caa aac cac tcc gtc tcc ccc acc tcc tct Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser	288
	85 90 95	
25	gac tac cgc aaa ctc ctc cac aac ttc cat aaa att ggt atg ttc cgc Asp Tyr Arg Lys Leu Leu His Asn Phe His Lys Ile Gly Met Phe Arg	336
	100 105 110	
30	gcc agg gcc cac act gct tac gcc acc ttc gtc atc atg ata gtg atg Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Ile Met Ile Val Met	384
	115 120 125	
35	ttt cta acg agc gtg acc gga gtc ctt tgc agc gac agt gcg tgg gtc Phe Leu Thr Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val	432
	130 135 140	
40	cat ctg gct agc ggc gca gca atg ggg ttc gcc tgg atc cag tgc gga His Leu Ala Ser Gly Ala Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly	480
	145 150 155 160	
45	tgg ata ggt cac gac tct ggg cat tac cgg att atg tct gac agg aaa Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys	528
	165 170 175	
50	tgg aac tgg ttc gcg cag gtc ctg agc aca aac tgc ctc cag ggg atc Trp Asn Trp Phe Ala Gln Val Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile	576
	180 185 190	
55	agt atc ggg tgg tgg aag tgg aac cat aac gcc cac cac att gct tgc Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys	624
	195 200 205	
60	aat agc ctg gac tac gac ccc gac ctc cag tat atc cct ttg ctc gtg Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val	672
	210 215 220	
65	gtc tcc ccc aag ttc ttc aac tcc ctt act tct cgt ttc tac gac aag Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys	720
	225 230 235 240	
70	aag ctg aat ttc gac ggc gtg tca agg ttt ctg gtt tgc tac cag cac Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His	768
	245 250 255	
75	tgg acg ttt tat cca gtc atg tgt gtc gct agg cta aac atg atc gca Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Ile Ala	816
	260 265 270	
80	cag tgc ttt ata acg ctt ttc tgc agc agg gag gtg ggt cat agg gcg Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Gly His Arg Ala	864
	275 280 285	
85	caa gag att ttc gga ctt gct gtg ttt tgg gtt tgg ttt ccg ctc ctg Gln Glu Ile Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu	912
	290 295 300	
90	ctc tct tgc tta cct aat tgg agc gag agg att atg ttt ctg cta gcg Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Ser Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala	960
	305 310 315 320	

118

	agc	tat	tcc	gtt	acg	ggg	ata	cag	cac	gtg	cag	ttc	agc	ttg	aac	cat	1008
	Ser	Tyr	Ser	Val	Thr	Gly	Ile	Gln	His	Val	Gln	Phe	Ser	Leu	Asn	His	
					325					330					335		
5	ttt	tct	tcg	gac	gtc	tac	gtg	ggc	ccg	cca	gta	gct	aac	gac	tgg	ttc	1056
	Phe	Ser	Ser	Asp	Val	Tyr	Val	Gly	Pro	Pro	Val	Ala	Asn	Asp	Trp	Phe	
				340					345					350			
10	aag	aaa	cag	act	gct	ggg	aca	ctt	aac	ata	tcg	tgc	ccg	gcg	tgg	atg	1104
	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Gly	Thr	Leu	Asn	Ile	Ser	Cys	Pro	Ala	Trp	Met	
			355					360					365				
15	gac	tgg	ttc	cat	ggc	ggg	ttg	cag	ttt	cag	gtc	gag	cac	cac	ttg	ttt	1152
	Asp	Trp	Phe	His	Gly	Gly	Leu	Gln	Phe	Gln	Val	Glu	His	His	Leu	Phe	
		370					375					380					
20	ccg	cgg	atg	cct	agg	ggt	cag	ttt	agg	aag	att	tct	cct	ttt	gtg	agg	1200
	Pro	Arg	Met	Pro	Arg	Gly	Gln	Phe	Arg	Lys	Ile	Ser	Pro	Phe	Val	Arg	
	385					390					395				400		
	gat	ttg	tgt	aag	aaa	cac	aac	ttg	cct	tac	aat	atc	gcg	tct	ttt	act	1248
	Asp	Leu	Cys	Lys	Lys	His	Asn	Leu	Pro	Tyr	Asn	Ile	Ala	Ser	Phe	Thr	
					405					410					415		
25	aaa	gca	aac	gtg	ttg	acg	ctt	aag	acg	ctg	aga	aat	acg	gcc	att	gag	1296
	Lys	Ala	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Lys	Thr	Leu	Arg	Asn	Thr	Ala	Ile	Glu	
				420					425					430			
30	gct	cgg	gac	ctc	tct	aat	ccg	acc	cca	aag	aat	atg	gtg	tgg	gaa	gcc	1344
	Ala	Arg	Asp	Leu	Ser	Asn	Pro	Thr	Pro	Lys	Asn	Met	Val	Trp	Glu	Ala	
			435				440						445				
35	gtc	cac	aca	cac	ggc	tag											1362
	Val	His	Thr	His	Gly												
			450														
	<210>	74															
40	<211>	453															
	<212>	PRT															
45	<213>	Primula vialii															
	<400>	74															
50	Met	Ala	Asn	Lys	Ser	Pro	Pro	Asn	Pro	Lys	Thr	Gly	Tyr	Ile	Thr	Ser	
	1				5					10					15		
55	Ser	Asp	Leu	Lys	Gly	His	Asn	Lys	Ala	Gly	Asp	Leu	Trp	Ile	Ser	Ile	
				20					25					30			
60	His	Gly	Glu	Val	Tyr	Asp	Val	Ser	Ser	Trp	Ala	Gly	Leu	His	Pro	Gly	
			35					40					45				
	Gly	Ser	Ala	Pro	Leu	Met	Ala	Leu	Ala	Gly	His	Asp	Val	Thr	Asp	Ala	
		50					55					60					
65	Phe	Leu	Ala	Tyr	His	Pro	Pro	Ser	Thr	Ala	Arg	Leu	Leu	Pro	Pro	Leu	
	65					70					75					80	
70	Ser	Thr	Asn	Leu	Leu	Leu	Gln	Asn	His	Ser	Val	Ser	Pro	Thr	Ser	Ser	
					85					90					95		

119

Asp Tyr Arg Lys Leu Leu His Asn Phe His Lys Ile Gly Met Phe Arg
 100 105 110
 5 Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Ile Met Ile Val Met
 115 120 125
 10 Phe Leu Thr Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val
 130 135 140
 15 His Leu Ala Ser Gly Ala Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly
 145 150 155 160
 Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys
 165 170 175
 20 Trp Asn Trp Phe Ala Gln Val Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile
 180 185 190
 25 Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys
 195 200 205
 30 Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val
 210 215 220
 35 Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys
 225 230 235 240
 Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His
 245 250 255
 40 Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Ile Ala
 260 265 270
 45 Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Gly His Arg Ala
 275 280 285
 50 Gln Glu Ile Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu
 290 295 300
 55 Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Ser Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala
 305 310 315 320
 Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His
 325 330 335
 60 Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Ala Asn Asp Trp Phe
 340 345 350
 65 Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met
 355 360 365
 70 Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe
 370 375 380
 Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg

120

385

390

395

400

5

Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr
 405 410 415

10

Lys Ala Asn Val Leu Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu
 420 425 430

15

Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Thr Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala
 435 440 445

Val His Thr His Gly
 450

20

<210> 75

<211> 903

<212> DNA

25

<213> *Ostreococcus tauri*

30

<220>

<221> CDS

35

<222> (1)..(903)

<223> Delta-5-Elongase

40

<400> 75

atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg tcc gcc gcg tac 48
 Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr
 1 5 10 15

45

gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tgc cac gcg aat ggc 96
 Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30

50

atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tgc ttg agg 144
 Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45

55

ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga 192
 Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
 50 55 60

60

ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg 240
 Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
 65 70 75 80

ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg 288
 Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
 85 90 95

65

atg ttc gcg cga gag atc tgc ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca 336
 Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
 100 105 110

70

acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tgc ttt aag atc ctc ctc ggg gtg 384
 Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
 115 120 125

tgg ttg cac tac aac aac aaa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc 432

121

	Trp	Leu	His	Tyr	Asn	Asn	Lys	Tyr	Leu	Glu	Leu	Leu	Asp	Thr	Val	Phe	
	130						135					140					
5	atg	gtt	gcg	cgc	aag	aag	acg	aag	cag	ttg	agc	ttc	ttg	cac	gtt	tat	480
	Met	Val	Ala	Arg	Lys	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	
	145					150					155				160		
10	cat	cac	gcc	ctg	ttg	atc	tgg	gcg	tgg	tgg	ttg	gtg	tgt	cac	ttg	atg	528
	His	His	Ala	Leu	Leu	Ile	Trp	Ala	Trp	Trp	Leu	Val	Cys	His	Leu	Met	
					165					170					175		
15	gcc	acg	aac	gat	tgt	atc	gat	gcc	tac	ttc	ggc	gcg	gcg	tgc	aac	tcg	576
	Ala	Thr	Asn	Asp	Cys	Ile	Asp	Ala	Tyr	Phe	Gly	Ala	Ala	Cys	Asn	Ser	
				180					185					190			
20	ttc	att	cac	atc	gtg	atg	tac	tcg	tat	tat	ctc	atg	tcg	gcg	ctc	ggc	624
	Phe	Ile	His	Ile	Val	Met	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Leu	Met	Ser	Ala	Leu	Gly	
			195					200					205				
25	att	cga	tgc	ccg	tgg	aag	cga	tac	atc	acc	cag	gct	caa	atg	ctc	caa	672
	Ile	Arg	Cys	Pro	Trp	Lys	Arg	Tyr	Ile	Thr	Gln	Ala	Gln	Met	Leu	Gln	
		210					215					220					
30	ttc	gtc	att	gtc	ttc	gcg	cac	gcc	gtg	ttc	gtg	ctg	cgt	cag	aag	cac	720
	Phe	Val	Ile	Val	Phe	Ala	His	Ala	Val	Phe	Val	Leu	Arg	Gln	Lys	His	
		225				230					235				240		
35	tgc	ccg	gtc	acc	ctt	cct	tgg	gcg	caa	atg	ttc	gtc	atg	acg	aac	atg	768
	Cys	Pro	Val	Thr	Leu	Pro	Trp	Ala	Gln	Met	Phe	Val	Met	Thr	Asn	Met	
					245					250					255		
40	ctc	gtg	ctc	ttc	ggg	aac	ttc	tac	ctc	aag	gcg	tac	tcg	aac	aag	tcg	816
	Leu	Val	Leu	Phe	Gly	Asn	Phe	Tyr	Leu	Lys	Ala	Tyr	Ser	Asn	Lys	Ser	
				260					265					270			
45	cgc	ggc	gac	ggc	gcg	agt	tcc	gtg	aaa	cca	gcc	gag	acc	acg	cgc	gcg	864
	Arg	Gly	Asp	Gly	Ala	Ser	Ser	Val	Lys	Pro	Ala	Glu	Thr	Thr	Arg	Ala	
			275					280					285				
50	ccc	agc	gtg	cga	cgc	acg	cga	tct	cga	aaa	att	gac	taa				903
	Pro	Ser	Val	Arg	Arg	Thr	Arg	Ser	Arg	Lys	Ile	Asp					
		290					295					300					
55	<210>	76															
	<211>	300															
	<212>	PRT															
	<213>	Ostreococcus tauri															
60	<400>	76															
	Met	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Ser	Ala	Ala	Tyr	
	1				5					10					15		
65	Ala	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Phe	Glu	Trp	Ser	His	Ala	Asn	Gly	
				20					25					30			
70	Ile	Asp	Asn	Val	Asp	Ala	Arg	Glu	Trp	Ile	Gly	Ala	Leu	Ser	Leu	Arg	
			35					40					45				
	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Thr	Thr	Met	Tyr	Leu	Leu	Phe	Cys	Leu	Val	Gly	
		50					55					60					
	Pro	Arg	Leu	Met	Ala	Lys	Arg	Glu	Ala	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Phe	Met	

122

65

70

75

80

5

Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
85 90 95

10

Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
100 105 110

15

Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
115 120 125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe
130 135 140

20

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr
145 150 155 160

25

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met
165 170 175

30

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser
180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly
195 .200 205

35

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
210 215 220

40

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
225 230 235 240

45

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
245 250 255

0

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
275 280 285

55

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
290 295 300

60

<210> 77

<211> 903

65

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

70

 $\langle 220 \rangle$

<221> CDS

123

<222> (1) .. (903)

<223> Delta-5-Elongase

5

<400> 77

10	atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg ttc gcc gcg tac	48
	Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr	
	1 5 10 15	
15	gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tgc cac gcg aat ggc	96
	Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly	
	20 25 30	
20	atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tgc ttg agg	144
	Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg	
	35 40 45	
25	ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga	192
	Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly	
	50 55 60	
30	ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg	240
	Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met	
	65 70 75 80	
35	ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg	288
	Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly	
	85 90 95	
40	atg ttc gcg cga gag atc tgc ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca	336
	Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser	
	100 105 110	
45	acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tgc ttt aag atc ctc ctc ggg gtg	384
	Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val	
	115 120 125	
50	tgg ttg cac tac aac aac aaa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc	432
	Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe	
	130 135 140	
55	atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat	480
	Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr	
	145 150 155 160	
60	cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg	528
	His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met	
	165 170 175	
65	gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tgc	576
	Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser	
	180 185 190	
70	ttc att cac atc gtg atg tac tgc tat tat ctc atg tgc gcg ctc ggc	624
	Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly	
	195 200 205	
75	att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa	672
	Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln	
	210 215 220	
80	ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac	720
	Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His	
	225 230 235 240	
85	tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg	768
	Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met	
	245 250 255	
90	ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tgc aac aag tgc	816
	Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser	

124

	260	265	270	
5	cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala	275 280	285	864
10	ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp	290 295	300	903
15	<210> 78 <211> 300 <212> PRT <213> <i>Ostreococcus tauri</i>			
20	<400> 78			
25	Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr 1 5 10 15			
30	Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly 20 25 30			
35	Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg 35 40 45			
40	Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly 50 55 60			
45	Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met 65 70 75 80			
50	Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly 85 90 95			
55	Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser 100 105 110			
60	Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val 115 120 125			
65	Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe 130 135 140			
70	Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr 145 150 155 160			
	His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met 165 170 175			
	Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser 180 185 190			
	Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly 195 200 205			

125

5 Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
210 215 220

10 Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
225 230 235 240

15 Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
245 250 255

20 Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
260 265 270

25 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
275 280 285

30 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
290 295 300

<210> 79

<211> 903

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

35 <220>

40 <221> CDS

<222> (1)..(903)

<223> Delta-5-Elongase

45 <400> 79

50 atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg tcc gcc gcg tac 48
Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr
1 5 10 15

55 gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tgg cac gcg aat ggc 96
Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
20 25 30

60 atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tgg ttg agg 144
Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
35 40 45

65 ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga 192
Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
50 55 60

70 ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg 240
Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
65 70 75 80

ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg 288
Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
85 90 95

atg ttc gcg cga gag atc tgg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca 336
Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser

126

	100	105	110	
5	acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val	384		
	115	120	125	
10	tgg ttg cac tac aac aac caa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe	432		
	130	135	140	
15	atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr	480		
	145	150	155	160
20	cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met	528		
	165	170	175	
25	gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser	576		
	180	185	190	
30	ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly	624		
	195	200	205	
35	att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln	672		
	210	215	220	
40	ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His	720		
	225	230	235	240
45	tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met	768		
	245	250	255	
50	ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser	816		
	260	265	270	
55	gcg ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala	864		
	275	280	285	
60	ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp	903		
	290	295	300	
65	<210> 80			
	<211> 300			
70	<212> PRT			
	<213> <i>Ostreococcus tauri</i>			
	<400> 80			
75	Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr			
	1	5	10	15
80	Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly			
	20	25	30	
85	Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg			
	35	40	45	

127

5 Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
50 55 60

10 Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
65 70 75 80

15 Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
85 90 95

20 Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
100 105 110

25 Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
115 120 125

30 Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe
130 135 140

35 Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr
145 150 155 160

40 His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met
165 170 175

45 Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser
180 185 190

50 Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly
195 200 205

55 Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
210 215 220

60 Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His
225 230 235 240

65 Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
245 250 255

70 Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
290 295 300

<210> 81

<211> 879

<212> DNA

128

<213> *Ostreococcus tauri*

5 <220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(879)

<223> Delta-6-Elongase

15 <400> 81

atg	agt	ggc	tta	cgt	gca	ccc	aac	ttt	tta	cac	aga	ttc	tgg	aca	aag	48
Met	Ser	Gly	Leu	Arg	Ala	Pro	Asn	Phe	Leu	His	Arg	Phe	Trp	Thr	Lys	
1			5						10					15		

20	tgg	gac	tac	gcg	att	tcc	aaa	gtc	gtc	ttc	acg	tgt	gcc	gac	agt	ttt	96
	Trp	Asp	Tyr	Ala	Ile	Ser	Lys	Val	Val	Phe	Thr	Cys	Ala	Asp	Ser	Phe	
				20				25						30			

25	cag	tgg	gac	atc	ggg	cca	gtg	agt	tgc	agt	acg	gcg	cat	tta	ccc	gcc	144
	Gln	Trp	Asp	Ile	Gly	Pro	Val	Ser	Ser	Thr	Ala	His	Leu	Pro	Ala		
			35					40				45					

30	att	gaa	tcc	cct	acc	cca	ctg	gtg	act	agc	ctc	ttg	ttc	tac	tta	gtc	192
	Ile	Glu	Ser	Pro	Thr	Pro	Leu	Val	Thr	Ser	Leu	Arg	Phe	Tyr	Leu	Val	
		50					55				60						

35	aca	gtt	ttc	ttg	tgg	tat	ggg	cgt	tta	acc	agg	agt	tca	gac	aag	aaa	240
	Thr	Val	Phe	Leu	Trp	Tyr	Gly	Arg	Leu	Thr	Arg	Ser	Ser	Asp	Lys	Lys	
	65					70				75					80		

att	aga	gag	cct	acg	tgg	tta	aga	aga	ttc	ata	ata	tgt	cat	aat	gcg	288
Ile	Arg	Glu	Pro	Thr	Trp	Leu	Arg	Arg	Phe	Ile	Ile	Cys	His	Asn	Ala	
			85						90					95		

40	ttc	ttg	ata	gtc	ctc	agt	ctt	tac	atg	tgc	ctt	ggg	tgt	gtg	gcc	caa	336
	Phe	Leu	Ile	Val	Leu	Ser	Leu	Tyr	Met	Cys	Leu	Gly	Cys	Val	Ala	Gln	
			100					105						110			

45	gcg	tat	cag	aat	gga	tat	act	tta	tgg	ggg	aat	gaa	ttc	aag	gcc	acg	384
	Ala	Tyr	Gln	Asn	Gly	Tyr	Thr	Leu	Trp	Gly	Asn	Glu	Phe	Lys	Ala	Thr	
			115					120					125				

50	gaa	act	cag	ctt	gct	ctc	tac	att	tac	att	ttt	tac	gta	agt	aaa	ata	432
	Glu	Thr	Gln	Leu	Ala	Leu	Tyr	Ile	Tyr	Ile	Phe	Tyr	Val	Ser	Lys	Ile	
		130					135					140					

55	tac	gag	ttt	gta	gat	act	tac	att	atg	ctt	ctc	aag	aat	aac	ttg	cgg	480
	Tyr	Glu	Phe	Val	Asp	Thr	Tyr	Ile	Met	Leu	Lys	Lys	Asn	Asn	Leu	Arg	
	145				150					155					160		

caa	gta	aga	ttc	cta	cac	act	tat	cac	cac	agc	acg	att	tcc	ttt	att	528
Gln	Val	Arg	Phe	Leu	His	Thr	Tyr	His	His	Ser	Thr	Ile	Ser	Phe	Ile	
				165				170						175		

60	tgg	tgg	atc	att	gct	cgg	agg	gct	ccg	ggg	ggg	gat	gct	tac	ttc	agc	576
	Trp	Trp	Ile	Ile	Ala	Arg	Arg	Ala	Pro	Gly	Gly	Asp	Ala	Tyr	Phe	Ser	
			180					185						190			

65	gcg	gcc	ttg	aac	tca	tgg	gta	cac	gtg	tgc	atg	tac	acc	tat	tat	cta	624
	Ala	Ala	Leu	Asn	Ser	Trp	Val	His	Val	Cys	Met	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Leu	
			195					200					205				

70	tta	tca	acc	ctt	att	gga	aaa	gaa	gat	cct	aag	cgt	tcc	aac	tac	ctt	672
	Leu	Ser	Thr	Leu	Ile	Gly	Lys	Glu	Asp	Pro	Lys	Arg	Ser	Asn	Tyr	Leu	
		210					215					220					

tgg	tgg	ggg	cgc	cac	cta	acg	caa	atg	cag	atg	ctt	cag	ttt	ttc	ttc	720
Trp	Trp	Gly	Arg	His	Leu	Thr	Gln	Met	Gln	Met	Leu	Gln	Phe	Phe	Phe	

129

	225		230		235		240	
5	aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tcg ttc tct acg tat ccc aag							768
	Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys							
			245		250		255	
10	ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg							816
	Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu							
			260		265		270	
15	ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag							864
	Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln							
			275		280		285	
20	aaa aaa cag cag tga							879
	Lys Lys Gln Gln							
			290					
25	<210> 82							
	<211> 292							
	<212> PRT							
	<213> Ostreococcus tauri							
30	<400> 82							
	Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys							
	1 5 10 15							
35	Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe							
	20 25 30							
40	Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala							
	35 40 45							
45	Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val							
	50 55 60							
50	Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys							
	65 70 75 80							
55	Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala							
	85 90 95							
60	Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln							
	100 105 110							
65	Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr							
	115 120 125							
70	Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile							
	130 135 140							
75	Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg							
	145 150 155 160							
80	Gln Val Arg Phe Leu His Thr Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile							
	165 170 175							

130

5 Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
 180 185 190
 Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu
 195 200 205
 10 Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu
 210 215 220
 15 Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe
 225 230 235 240
 20 Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
 245 250 255
 25 Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
 260 265 270
 Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
 275 280 285
 30 Lys Lys Gln Gln
 290
 35 <210> 83
 <211> 831
 <212> DNA
 40 <213> Thraustochytrium sp.
 45 <220>
 <221> CDS
 50 <222> (1) .. (831)
 <223> Delta-5-Elongase
 55 <400> 83
 atg gac gtc gtc gag cag caa tgg cgc cgc ttc gtg gac gcc gtg gac 48
 Met Asp Val Val Glu Gln Gln Trp Arg Arg Phe Val Asp Ala Val Asp
 1 5 10 15
 60 aac gga atc gtg gag ttc atg gag cat gag aag ccc aac aag ctg aac 96
 Asn Gly Ile Val Glu Phe Met Glu His Glu Lys Pro Asn Lys Leu Asn
 20 25 30
 65 gag ggc aag ctc ttc acc tcg acc gag gag atg atg gcg ctt atc gtc 144
 Glu Gly Lys Leu Phe Thr Ser Thr Glu Glu Met Met Ala Leu Ile Val
 35 40 45
 70 ggc tac ctg gcg ttc gtg gtc ctc ggg tcc gcc ttc atg aag gcc ttt 192
 Gly Tyr Leu Ala Phe Val Val Leu Gly Ser Ala Phe Met Lys Ala Phe
 50 55 60
 gtc gat aag cct ttc gag ctc aag ttc ctc aag ctc gtg cac aac atc 240
 Val Asp Lys Pro Phe Glu Leu Lys Phe Leu Lys Leu Val His Asn Ile

131

	65		70		75		80	
5	ttc ctc acc ggt ctg tcc atg tac atg gcc acc gag tgc gcg cgc cag							288
	Phe Leu Thr Gly Leu Ser Met Tyr Met Ala Thr Glu Cys Ala Arg Gln							
			85		90		95	
10	gca tac ctc ggc ggc tac aag ctc ttt ggc aac ccg atg gag aag ggc							336
	Ala Tyr Leu Gly Gly Tyr Lys Leu Phe Gly Asn Pro Met Glu Lys Gly							
			100		105		110	
15	acc gag tcg cac gcc ccg ggc atg gcc aac atc atc tac atc ttc tac							384
	Thr Glu Ser His Ala Pro Gly Met Ala Asn Ile Ile Tyr Ile Phe Tyr							
			115		120		125	
20	gtg agc aag ttc ctc gaa ttc ctc gac acc gtc ttc atg atc ctc ggc							432
	Val Ser Lys Phe Leu Glu Phe Leu Asp Thr Val Phe Met Ile Leu Gly							
			130		135		140	
25	aag aag tgg aag cag ctc agc ttt ctc cac gtc tac cac cac gcg agc							480
	Lys Lys Trp Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Ser							
			145		150		155	160
30	atc agc ttc atc tgg ggc atc atc gcc cgc ttc gcg ccc ggt ggc gac							528
	Ile Ser Phe Ile Trp Gly Ile Ile Ala Arg Phe Ala Pro Gly Gly Asp							
			165		170		175	
35	gcc tac ttc tct acc atc ctc aac agc agc gtg cat gtc gtg ctc tac							576
	Ala Tyr Phe Ser Thr Ile Leu Asn Ser Ser Val His Val Val Leu Tyr							
			180		185		190	
40	ggc tac tac gcc tcg acc acc ctc ggc tac acc ttc atg cgc ccg ctg							624
	Gly Tyr Tyr Ala Ser Thr Thr Leu Gly Tyr Thr Phe Met Arg Pro Leu							
			195		200		205	
45	cgc ccg tac att acc acc att cag ctc acg cag ttc atg gcc atg gtc							672
	Arg Pro Tyr Ile Thr Thr Ile Gln Leu Thr Gln Phe Met Ala Met Val							
			210		215		220	
50	gtc cag tcc gtc tat gac tac tac aac ccc tgc gac tac ccg cag ccc							720
	Val Gln Ser Val Tyr Asp Tyr Tyr Asn Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Pro							
			225		230		235	240
55	ctc gtc aag ctg ctc ttc tgg tac atg ctc acc atg ctc ggc ctc ttc							768
	Leu Val Lys Leu Leu Phe Trp Tyr Met Leu Thr Met Leu Gly Leu Phe							
			245		250		255	
60	ggc aac ttc ttc gtg cag cag tac ctc aag ccc aag gcg ccc aag aag							816
	Gly Asn Phe Phe Val Gln Gln Tyr Leu Lys Pro Lys Ala Pro Lys Lys							
			260		265		270	
65	cag aag acc atc taa							831
	Gln Lys Thr Ile							
			275					
70	<210> 84							
	<211> 276							
	<212> PRT							
	<213> Thraustochytrium sp.							
75	<400> 84							
	Met Asp Val Val Glu Gln Gln Trp Arg Arg Phe Val Asp Ala Val Asp							
	1 5 10 15							
	Asn Gly Ile Val Glu Phe Met Glu His Glu Lys Pro Asn Lys Leu Asn							
	20 25 30							

5

10

15

20

25

30

35

40

45

0

55

60

65

<210> 85

<211> 1077

<212> DNA

133

<213> Thalassiosira pseudonana

5 <220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(1077)

<223> Delta-5-Elongase

15 <400> 85
 atg tgc tca cca ccg ccg tca caa tcc aaa aca aca tcc ctc cta gca 48
 Met Cys Ser Pro Pro Ser Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala
 1 5 10 15

20 ccg tac acc acc gcc gcc ctc ctc ctc ctc acc ctc aca acg tgg tgc 96
 Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys
 20 25 30

25 cac ttc gcc ttc cca gcc gcc acc gcc aca ccc ggc ctc acc gcc gaa 144
 His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu
 35 40 45

30 atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 192
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu
 50 55 60

35 agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 240
 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys
 65 70 75 80

40 tat gat atg aag tca ctc ctg acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 288
 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val
 85 90 95

45 gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg 336
 Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala
 100 105 110

50 gtg atg aat aga gac cat cct ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg 384
 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
 115 120 125

55 gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt 432
 Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
 130 135 140

60 gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg 480
 Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
 145 150 155 160

65 aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata 528
 Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile
 165 170 175

70 gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggc gga gac att 576
 Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
 180 185 190

75 tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc 624
 Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
 195 200 205

80 tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac 672
 Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
 210 215 220

85 ttg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg 720
 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr

134

	225		230		235		240	
5	ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp 245 250 255							768
10	gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln 260 265 270							816
15	gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys 275 280 285							864
20	cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys 290 295 300							912
25	aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp 305 310 315 320							960
30	ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala 325 330 335							1008
35	gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr 340 345 350							1056
40	cgt gtt act ggt gcc atg tag Arg Val Thr Gly Ala Met 355							1077
45	<210> 86 <211> 358 <212> PRT <213> Thalassiosira pseudonana							
50	<400> 86 Met Cys Ser Pro Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala 1 5 10 15							
55	Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys 20 25 30							
60	His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu 35 40 45							
65	Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu 50 55 60							
70	Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys 65 70 75 80							
	Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val 85 90 95							
	Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala 100 105 110							

135

5 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly
115 120 125

10 Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys
130 135 140

15 Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly
145 150 155 160

20 Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile
180 185 190

25 Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser
195 200 205

30 Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr
210 215 220

35 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr
225 230 235 240

40 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp
245 250 255

45 Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln
260 265 270

Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys
275 280 285

50 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys
290 295 300

55 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp
305 310 315 320

60 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala
325 330 335

65 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr
340 345 350

Arg Val Thr Gly Ala Met
355

70 <210> 87
<211> 1086
<212> DNA

136

<213> Phytophthora infestans

5 <220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(1086)

<223> Omega-3-Desaturase

15 <400> 87

atg	gcg	acg	aag	gag	gcg	tat	gtg	ttc	ccc	act	ctg	acg	gag	atc	aag	48
Met	Ala	Thr	Lys	Glu	Ala	Tyr	Val	Phe	Pro	Thr	Leu	Thr	Glu	Ile	Lys	
1				5				10						15		

cgg	tcg	cta	cct	aaa	gac	tgt	ttc	gag	gct	tcg	gtg	cct	ctg	tcg	ctc	96
Arg	Ser	Leu	Pro	Lys	Asp	Cys	Phe	Glu	Ala	Ser	Val	Pro	Leu	Ser	Leu	
			20					25					30			

tac	tac	acc	gtg	cgt	tgt	ctg	gtg	atc	gcg	gtg	gct	cta	acc	ttc	ggc	144
Tyr	Tyr	Thr	Val	Arg	Cys	Leu	Val	Ile	Ala	Val	Ala	Leu	Thr	Phe	Gly	
		35					40					45				

ctc	aac	tac	gct	cgc	gct	ctg	ccc	gag	gtc	gag	agc	ttc	tgg	gct	ctg	192
Leu	Asn	Tyr	Ala	Arg	Ala	Leu	Pro	Glu	Val	Glu	Ser	Phe	Trp	Ala	Leu	
	50					55					60					

gac	gcc	gca	ctc	tgc	acg	ggc	tac	atc	ttg	ctg	cag	ggc	atc	gtg	ttc	240
Asp	Ala	Ala	Leu	Cys	Thr	Gly	Tyr	Ile	Leu	Leu	Gln	Gly	Ile	Val	Phe	
65				70						75				80		

tgg	ggc	ttc	ttc	acg	gtg	ggc	cac	gat	gcc	ggc	cac	ggc	gcc	ttc	tcg	288
Trp	Gly	Phe	Phe	Thr	Val	Gly	His	Asp	Ala	Gly	His	Gly	Ala	Phe	Ser	
				85				90						95		

cgc	tac	cac	ctg	ctt	aac	ttc	gtg	gtg	ggc	act	ttc	atg	cac	tcg	ctc	336
Arg	Tyr	His	Leu	Leu	Asn	Phe	Val	Val	Gly	Thr	Phe	Met	His	Ser	Leu	
			100					105					110			

atc	ctc	acg	ccc	ttc	gag	tcg	tgg	aag	ctc	acg	cac	cgt	cac	cac	cac	384
Ile	Leu	Thr	Pro	Phe	Glu	Ser	Trp	Lys	Leu	Thr	His	Arg	His	His	His	
		115					120					125				

aag	aac	acg	ggc	aac	att	gac	cgt	gac	gag	gtc	ttc	tac	ccg	caa	cgc	432
Lys	Asn	Thr	Gly	Asn	Ile	Asp	Arg	Asp	Glu	Val	Phe	Tyr	Pro	Gln	Arg	
	130					135					140					

aag	gcc	gac	gac	cac	ccg	ctg	tct	cgc	aac	ctg	att	ctg	gcg	ctc	ggg	480
Lys	Ala	Asp	Asp	His	Pro	Leu	Ser	Arg	Asn	Leu	Ile	Leu	Ala	Leu	Gly	
145				150				155						160		

gca	gcg	tgg	ctc	gcc	tat	ttg	gtc	gag	ggc	ttc	cct	cct	cgt	aag	gtc	528
Ala	Ala	Trp	Leu	Ala	Tyr	Leu	Val	Glu	Gly	Phe	Pro	Pro	Arg	Lys	Val	
			165					170						175		

aac	cac	ttc	aac	ccg	ttc	gag	cct	ctg	ttc	gtg	cgt	cag	gtg	tca	gct	576
Asn	His	Phe	Asn	Pro	Phe	Glu	Pro	Leu	Phe	Val	Arg	Gln	Val	Ser	Ala	
			180				185						190			

gtg	gta	atc	tct	ctt	ctc	gcc	cac	ttc	ttc	gtg	gcc	gga	ctc	tcc	atc	624
Val	Val	Ile	Ser	Leu	Leu	Ala	His	Phe	Phe	Val	Ala	Gly	Leu	Ser	Ile	
		195				200					205					

tat	ctg	agc	ctc	cag	ctg	ggc	ctt	aag	acg	atg	gca	atc	tac	tac	tat	672
Tyr	Leu	Ser	Leu	Gln	Leu	Gly	Leu	Lys	Thr	Met	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Tyr	
	210					215					220					

gga	cct	gtt	ttt	gtg	ttc	ggc	agc	atg	ctg	gtc	att	acc	acc	ttc	cta	720
Gly	Pro	Val	Phe	Val	Phe	Gly	Ser	Met	Leu	Val	Ile	Thr	Thr	Phe	Leu	

137

	225		230		235		240		
	cac cac aat gat gag gag acc cca tgg tac gcc gac tcg gag tgg acg							768	
5	His His Asn Asp Glu Glu Thr Pro Trp Tyr Ala Asp Ser Glu Trp Thr								
		245			250		255		
	tac gtc aag ggc aac ctc tcg tcc gtg gac cga tcg tac ggc gcg ctc							816	
10	Tyr Val Lys Gly Asn Leu Ser Ser Val Asp Arg Ser Tyr Gly Ala Leu								
		260			265		270		
	att gac aac ctg agc cac aac atc ggc acg cac cag atc cac cac ctt							864	
	Ile Asp Asn Leu Ser His Asn Ile Gly Thr His Gln Ile His His Leu								
		275			280		285		
15	ttc cct atc att ccg cac tac aaa ctc aag aaa gcc act gcg gcc ttc							912	
	Phe Pro Ile Ile Pro His Tyr Lys Leu Lys Lys Ala Thr Ala Ala Phe								
		290			295		300		
20	cac cag gct ttc cct gag ctc gtg cgc aag agc gac gag cca att atc							960	
	His Gln Ala Phe Pro Glu Leu Val Arg Lys Ser Asp Glu Pro Ile Ile								
		305			310		315		320
	aag gct ttc ttc cgg gtt gga cgt ctc tac gca aac tac ggc gtt gtg							1008	
25	Lys Ala Phe Phe Arg Val Gly Arg Leu Tyr Ala Asn Tyr Gly Val Val								
		325			330		335		
	gac cag gag gcg aag ctc ttc acg cta aag gaa gcc aag gcg gcg acc							1056	
30	Asp Gln Glu Ala Lys Leu Phe Thr Leu Lys Glu Ala Lys Ala Ala Thr								
		340			345		350		
	gag gcg gcg gcc aag acc aag tcc acg taa							1086	
	Glu Ala Ala Ala Lys Thr Lys Ser Thr								
		355			360				
35	<210> 88								
	<211> 361								
40	<212> PRT								
	<213> Phytophthora infestans								
45	<400> 88								
	Met Ala Thr Lys Glu Ala Tyr Val Phe Pro Thr Leu Thr Glu Ile Lys								
	1 5 10 15								
	Arg Ser Leu Pro Lys Asp Cys Phe Glu Ala Ser Val Pro Leu Ser Leu								
		20			25		30		
55	Tyr Tyr Thr Val Arg Cys Leu Val Ile Ala Val Ala Leu Thr Phe Gly								
		35			40		45		
60	Leu Asn Tyr Ala Arg Ala Leu Pro Glu Val Glu Ser Phe Trp Ala Leu								
		50			55		60		
65	Asp Ala Ala Leu Cys Thr Gly Tyr Ile Leu Leu Gln Gly Ile Val Phe								
		65			70		75		80
	Trp Gly Phe Phe Thr Val Gly His Asp Ala Gly His Gly Ala Phe Ser								
		85			90		95		
70	Arg Tyr His Leu Leu Asn Phe Val Val Gly Thr Phe Met His Ser Leu								
		100			105		110		

138

5 Ile Leu Thr Pro Phe Glu Ser Trp Lys Leu Thr His Arg His His His
 115 120 125
 10 Lys Asn Thr Gly Asn Ile Asp Arg Asp Glu Val Phe Tyr Pro Gln Arg
 130 135 140
 15 Lys Ala Asp Asp His Pro Leu Ser Arg Asn Leu Ile Leu Ala Leu Gly
 145 150 155 160
 20 Ala Ala Trp Leu Ala Tyr Leu Val Glu Gly Phe Pro Pro Arg Lys Val
 165 170 175
 25 Asn His Phe Asn Pro Phe Glu Pro Leu Phe Val Arg Gln Val Ser Ala
 180 185 190
 30 Val Val Ile Ser Leu Leu Ala His Phe Phe Val Ala Gly Leu Ser Ile
 195 200 205
 35 Tyr Leu Ser Leu Gln Leu Gly Leu Lys Thr Met Ala Ile Tyr Tyr Tyr
 210 215 220
 40 Gly Pro Val Phe Val Phe Gly Ser Met Leu Val Ile Thr Thr Phe Leu
 225 230 235 240
 45 His His Asn Asp Glu Glu Thr Pro Trp Tyr Ala Asp Ser Glu Trp Thr
 245 250 255
 50 Tyr Val Lys Gly Asn Leu Ser Ser Val Asp Arg Ser Tyr Gly Ala Leu
 260 265 270
 55 Ile Asp Asn Leu Ser His Asn Ile Gly Thr His Gln Ile His His Leu
 275 280 285
 60 Phe Pro Ile Ile Pro His Tyr Lys Leu Lys Lys Ala Thr Ala Ala Phe
 290 295 300
 65 His Gln Ala Phe Pro Glu Leu Val Arg Lys Ser Asp Glu Pro Ile Ile
 305 310 315 320
 70 Lys Ala Phe Phe Arg Val Gly Arg Leu Tyr Ala Asn Tyr Gly Val Val
 325 330 335
 75 Asp Gln Glu Ala Lys Leu Phe Thr Leu Lys Glu Ala Lys Ala Ala Thr
 340 345 350
 80 Glu Ala Ala Ala Lys Thr Lys Ser Thr
 355 360
 85 <210> 89
 90 <211> 1371
 95 <212> DNA

139

<213> *Ostreococcus tauri*

5 <220>

<221> CDS

10 <222> (1) .. (1371)

<223> Delta-6-Desaturase

15 <400> 89

atg tgc gtg gag acg gaa aat aac gat ggg atc ccc acg gtg gag atc	48
Met Cys Val Glu Thr Glu Asn Asn Asp Gly Ile Pro Thr Val Glu Ile	
1 5 10 15	

gcg ttc gac ggt gag cgc gag cgg gcg gag gca aac gtg aag ctg tcc	96
Ala Phe Asp Gly Glu Arg Glu Arg Ala Glu Ala Asn Val Lys Leu Ser	
20 25 30	

gcg gag aag atg gag ccg gcg gcg ctg gcg aag acg ttc gcg agg cgg	144
Ala Glu Lys Met Glu Pro Ala Ala Leu Ala Lys Thr Phe Ala Arg Arg	
35 40 45	

tac gtc gtg atc gag ggg gtg gag tac gat gtg acg gat ttt aag cac	192
Tyr Val Val Ile Glu Gly Val Glu Tyr Asp Val Thr Asp Phe Lys His	
50 55 60	

ccg gga gga acg gtt att ttc tat gcg ttg tca aac acc ggg gcg gac	240
Pro Gly Gly Thr Val Ile Phe Tyr Ala Leu Ser Asn Thr Gly Ala Asp	
65 70 75 80	

gcg acg gaa gcg ttc aag gag ttt cat cat cgg tcg aga aag gcg agg	288
Ala Thr Glu Ala Phe Lys Glu Phe His His Arg Ser Arg Lys Ala Arg	
85 90 95	

aaa gcc ttg gcg gcg ctc ccg tct cga ccg gcc aag acg gcc aag gtg	336
Lys Ala Leu Ala Ala Leu Pro Ser Arg Pro Ala Lys Thr Ala Lys Val	
100 105 110	

gac gac gcg gag atg ctc caa gat ttc gcc aag tgg cgg aaa gaa ttg	384
Asp Asp Ala Glu Met Leu Gln Asp Phe Ala Lys Trp Arg Lys Glu Leu	
115 120 125	

gag aga gat gga ttc ttc aag ccc tct ccg gcg cac gtg gcg tat cgc	432
Glu Arg Asp Gly Phe Phe Lys Pro Ser Pro Ala His Val Ala Tyr Arg	
130 135 140	

ttc gcc gag ctc gcg gcg atg tac gct ctc ggg acg tac ctg atg tac	480
Phe Ala Glu Leu Ala Ala Met Tyr Ala Leu Gly Thr Tyr Leu Met Tyr	
145 150 155 160	

gct cga tac gtc gtc tcc tcg gtg ctc gtg tac gct tgc ttt ttc ggc	528
Ala Arg Tyr Val Val Ser Ser Val Leu Val Tyr Ala Cys Phe Phe Gly	
165 170 175	

gcc cga tgc ggt tgg gtg cag cac gag ggc gga cac agc tcg ctg acg	576
Ala Arg Cys Gly Trp Val Gln His Glu Gly Gly His Ser Ser Leu Thr	
180 185 190	

ggc aac att tgg tgg gac aag cgc atc cag gcc ttc aca gcc ggg ttc	624
Gly Asn Ile Trp Trp Asp Lys Arg Ile Gln Ala Phe Thr Ala Gly Phe	
195 200 205	

ggt ctc gcc ggt agc ggc gac atg tgg aac tcg atg cac aac aag cat	672
Gly Leu Ala Gly Ser Gly Asp Met Trp Asn Ser Met His Asn Lys His	
210 215 220	

cac gcg acg cct caa aag gtt cgt cac gac atg gat ctg gac acc acc	720
His Ala Thr Pro Gln Lys Val Arg His Asp Met Asp Leu Asp Thr Thr	

140

	225		230		235		240	
5	ccc gcg gtg gcg ttc ttc aac acc gcg gtg gaa gac aat cgt ccc cgt Pro Ala Val Ala Phe Phe Asn Thr Ala Val Glu Asp Asn Arg Pro Arg	768	245	250	255			
10	ggc ttt agc aag tac tgg ttg cgc ctt cag gcg tgg acc ttc atc ccc Gly Phe Ser Lys Tyr Trp Leu Arg Leu Gln Ala Trp Thr Phe Ile Pro	816	260	265	270			
15	gtg acg tcc ggc ttg gtg ctc ctt ttc tgg atg ttt ttc ctc cac ccc Val Thr Ser Gly Leu Val Leu Leu Phe Trp Met Phe Phe Leu His Pro	864	275	280	285			
20	tcc aag gct ttg aag ggt ggc aag tac gaa gag ttg gtg tgg atg ctc Ser Lys Ala Leu Lys Gly Gly Lys Tyr Glu Glu Leu Val Trp Met Leu	912	290	295	300			
25	gcc gcg cac gtc atc cgc acg tgg acg atc aag gcg gtg acc gga ttc Ala Ala His Val Ile Arg Thr Trp Thr Ile Lys Ala Val Thr Gly Phe	960	305	310	315			320
30	acc gcg atg cag tcc tac ggc tta ttt ttg gcg acg agc tgg gtg agc Thr Ala Met Gln Ser Tyr Gly Leu Phe Leu Ala Thr Ser Trp Val Ser	1008	325	330	335			
35	ggc tgc tat ctg ttt gca cac ttc tcc acg tcg cac acg cac ctg gat Gly Cys Tyr Leu Phe Ala His Phe Ser Thr Ser His Thr His Leu Asp	1056	340	345	350			
40	gtg gtg ccc gcg gac gag cat ctc tcc tgg gtt cga tac gcc gtc gat Val Val Pro Ala Asp Glu His Leu Ser Trp Val Arg Tyr Phe Ala Val Asp	1104	355	360	365			
45	cac acg atc gac atc gat ccg agt caa ggt tgg gtg aac tgg ttg atg His Thr Ile Asp Ile Asp Pro Ser Gln Gly Trp Val Asn Trp Leu Met	1152	370	375	380			
50	ggc tac ctc aac tgc caa gtc atc cac cac ctc ttt ccg agc atg ccg Gly Tyr Leu Asn Cys Gln Val Ile His His Leu Phe Pro Ser Met Pro	1200	385	390	395			400
55	cag ttc cgc cag ccc gag gta tct cgc cgc ttc gtc gcc ttt gcg aaa Gln Phe Arg Gln Pro Glu Val Ser Arg Arg Phe Val Ala Phe Ala Lys	1248	405	410	415			
60	aag tgg aac ctc aac tac aag gtc atg acc tac gcc ggt gcg tgg aag Lys Trp Asn Leu Asn Tyr Lys Val Met Thr Tyr Ala Gly Ala Trp Lys	1296	420	425	430			
65	gca acg ctc gga aac ctc gac aac gtg ggt aag cac tac tac gtg cac Ala Thr Leu Gly Asn Leu Asp Asn Val Gly Lys His Tyr Tyr Val His	1344	435	440	445			
70	ggc caa cac tcc gga aag acg gcg taa Gly Gln His Ser Gly Lys Thr Ala	1371	450	455				
	<210> 90							
	<211> 456							
	<212> PRT							
	<213> <i>Ostreococcus tauri</i>							
	<400> 90							
	Met Cys Val Glu Thr Glu Asn Asn Asp Gly Ile Pro Thr Val Glu Ile							
	1 5 10 15							

141

5 Ala Phe Asp Gly Glu Arg Glu Arg Ala Glu Ala Asn Val Lys Leu Ser
 20 25 30
 10 Ala Glu Lys Met Glu Pro Ala Ala Leu Ala Lys Thr Phe Ala Arg Arg
 35 40 45
 15 Tyr Val Val Ile Glu Gly Val Glu Tyr Asp Val Thr Asp Phe Lys His
 50 55 60
 20 Pro Gly Gly Thr Val Ile Phe Tyr Ala Leu Ser Asn Thr Gly Ala Asp
 65 70 75 80
 25 Ala Thr Glu Ala Phe Lys Glu Phe His His Arg Ser Arg Lys Ala Arg
 85 90 95
 30 Lys Ala Leu Ala Ala Leu Pro Ser Arg Pro Ala Lys Thr Ala Lys Val
 100 105 110
 35 Asp Asp Ala Glu Met Leu Gln Asp Phe Ala Lys Trp Arg Lys Glu Leu
 115 120 125
 40 Glu Arg Asp Gly Phe Phe Lys Pro Ser Pro Ala His Val Ala Tyr Arg
 130 135 140
 45 Phe Ala Glu Leu Ala Ala Met Tyr Ala Leu Gly Thr Tyr Leu Met Tyr
 145 150 155 160
 50 Ala Arg Tyr Val Val Ser Ser Val Leu Val Tyr Ala Cys Phe Phe Gly
 165 170 175
 55 Ala Arg Cys Gly Trp Val Gln His Glu Gly Gly His Ser Ser Leu Thr
 180 185 190
 60 Gly Asn Ile Trp Trp Asp Lys Arg Ile Gln Ala Phe Thr Ala Gly Phe
 195 200 205
 65 Gly Leu Ala Gly Ser Gly Asp Met Trp Asn Ser Met His Asn Lys His
 210 215 220
 70 His Ala Thr Pro Gln Lys Val Arg His Asp Met Asp Leu Asp Thr Thr
 225 230 235 240
 75 Pro Ala Val Ala Phe Phe Asn Thr Ala Val Glu Asp Asn Arg Pro Arg
 245 250 255
 80 Gly Phe Ser Lys Tyr Trp Leu Arg Leu Gln Ala Trp Thr Phe Ile Pro
 260 265 270
 85 Val Thr Ser Gly Leu Val Leu Leu Phe Trp Met Phe Phe Leu His Pro
 275 280 285
 90 Ser Lys Ala Leu Lys Gly Gly Lys Tyr Glu Glu Leu Val Trp Met Leu
 290 295 300

142

Ala Ala His Val Ile Arg Thr Trp Thr Ile Lys Ala Val Thr Gly Phe
305 310 315 320

5 Thr Ala Met Gln Ser Tyr Gly Leu Phe Leu Ala Thr Ser Trp Val Ser
325 330 335

10 Gly Cys Tyr Leu Phe Ala His Phe Ser Thr Ser His Thr His Leu Asp
340 345 350

15 Val Val Pro Ala Asp Glu His Leu Ser Trp Val Arg Tyr Ala Val Asp
355 360 365

20 His Thr Ile Asp Ile Asp Pro Ser Gln Gly Trp Val Asn Trp Leu Met
370 375 380

Gly Tyr Leu Asn Cys Gln Val Ile His His Leu Phe Pro Ser Met Pro
385 390 395 400

25 Gln Phe Arg Gln Pro Glu Val Ser Arg Arg Phe Val Ala Phe Ala Lys
405 410 415

30 Lys Trp Asn Leu Asn Tyr Lys Val Met Thr Tyr Ala Gly Ala Trp Lys
420 425 430

35 Ala Thr Leu Gly Asn Leu Asp Asn Val Gly Lys His Tyr Tyr Val His
435 440 445

40 Gly Gln His Ser Gly Lys Thr Ala
450 455

<210> 91

45 <211> 606

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

50 <220>

55 <221> CDS

<222> (1)..(606)

<223> Delta-5-Desaturase

60 <400> 91

atg tac ggt ttg cta tcg ctc aag tcg tgc ttc gtc gac gat ttc aac 48
Met Tyr Gly Leu Leu Ser Leu Lys Ser Cys Phe Val Asp Asp Phe Asn
1 5 10 15

65 gcc tac ttc tcc gga cgc atc ggc tgg gtc aag gtg atg aag ttc acc 96
Ala Tyr Phe Ser Gly Arg Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys Phe Thr
20 25 30

70 cgc ggc gag gcg atc gca ttt tgg ggc acc aag ctc ttg tgg gcc gcg 144
Arg Gly Glu Ala Ile Ala Phe Trp Gly Thr Lys Leu Leu Trp Ala Ala
35 40 45

143

5	tat tac ctc gcg ttg ccg cta aag atg tgc cat cgg ccg ctc gga gaa Tyr Tyr Leu Ala Leu Pro Leu Lys Met Ser His Arg Pro Leu Gly Glu 50 55 60	192
10	ctc ctc gca ctc tgg gcc gtc acc gag ttc gtc acc gga tgg ctg ttg Leu Leu Ala Leu Trp Ala Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp Leu Leu 65 70 75 80	240
15	gcg ttc atg ttc caa gtc gcc cac gtc gtc ggc gag gtt cac ttc ttc Ala Phe Met Phe Gln Val Ala His Val Val Gly Glu Val His Phe Phe 85 90 95	288
20	acc ctc gac gcg aag aac cgc gtg aac ttg gga tgg gga gag gca cag Thr Leu Asp Ala Lys Asn Arg Val Asn Leu Gly Trp Gly Glu Ala Gln 100 105 110	336
25	ctc atg tgc agc gcg gat ttc gcc cac gga tcc aag ttt tgg acg cac Leu Met Ser Ser Ala Asp Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp Thr His 115 120 125	384
30	ttc tcc gga ggc tta aac tac caa gtc gtc cac cat ctc ttc ccg ggc Phe Ser Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Val Val His His Leu Phe Pro Gly 130 135 140	432
35	gtc tgc cac gtg cac tat ccc gcg ctc gcg cca att att aag gcg gca Val Cys His Val His Tyr Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys Ala Ala 145 150 155 160	480
40	gct gag aag cac ggc ctc cac tac cag att tac ccc acg ttt tgg tcc Ala Glu Lys His Gly Leu His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe Trp Ser 165 170 175	528
45	gcc ctg cgc gcg cac ttc ccg cac ctc gcc aac gtc ggc cgc gcc gcg Ala Leu Arg Ala His Phe Arg His Leu Ala Asn Val Gly Arg Ala Ala 180 185 190	576
50	tac gta ccg tcc ctc caa acc gtc gga tga Tyr Val Pro Ser Leu Gln Thr Val Gly 195 200	606
55	<210> 92	
60	<211> 201	
65	<212> PRT	
70	<213> <i>Ostreococcus tauri</i>	
75	<400> 92	
80	Met Tyr Gly Leu Leu Ser Leu Lys Ser Cys Phe Val Asp Asp Phe Asn 1 5 10 15	
85	Ala Tyr Phe Ser Gly Arg Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys Phe Thr 20 25 30	
90	Arg Gly Glu Ala Ile Ala Phe Trp Gly Thr Lys Leu Leu Trp Ala Ala 35 40 45	
95	Tyr Tyr Leu Ala Leu Pro Leu Lys Met Ser His Arg Pro Leu Gly Glu 50 55 60	
100	Leu Leu Ala Leu Trp Ala Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp Leu Leu 65 70 75 80	

144

Ala Phe Met Phe Gln Val Ala His Val Val Gly Glu Val His Phe Phe
85 90 95

5 Thr Leu Asp Ala Lys Asn Arg Val Asn Leu Gly Trp Gly Glu Ala Gln
100 105 110

10 Leu Met Ser Ser Ala Asp Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp Thr His
115 120 125

15 Phe Ser Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Val Val His His Leu Phe Pro Gly
130 135 140

20 Val Cys His Val His Tyr Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys Ala Ala
145 150 155 160

Ala Glu Lys His Gly Leu His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe Trp Ser
165 170 175

25 Ala Leu Arg Ala His Phe Arg His Leu Ala Asn Val Gly Arg Ala Ala
180 185 190

30 Tyr Val Pro Ser Leu Gln Thr Val Gly
195 200

<210> 93

35 <211> 714

<212> DNA

40 <213> *Ostreococcus tauri*

<220>

45 <221> CDS

<222> (1)..(714)

0 <223> Delta-5-Desaturase

<400> 93

55 atg gtg agc cat cac tcg tac tgt aac gac gcg gat ttg gat cag gat 48
Met Val Ser His His Ser Tyr Cys Asn Asp Ala Asp Leu Asp Gln Asp
1 5 10 15

60 gtg tac acc gca ctg ccg ctc ctg cgc ctg gac ccg tct cag gag ttg 96
Val Tyr Thr Ala Leu Pro Leu Leu Arg Leu Asp Pro Ser Gln Glu Leu
20 25 30

65 aag tgg ttt cat cga tac cag gcg ttt tac gcc ccg ctc atg tgg ccg 144
Lys Trp Phe His Arg Tyr Gln Ala Phe Tyr Ala Pro Leu Met Trp Pro
35 40 45

70 ttt ttg tgg ctc gcg gcg cag ttt ggc gac gcg cag aac atc ctg atc 192
Phe Leu Trp Leu Ala Ala Gln Phe Gly Asp Ala Gln Asn Ile Leu Ile
50 55 60

gac cga gcg tcg ccg ggc gtc gcg tac aag gga ttg atg gcg aac gag 240
Asp Arg Ala Ser Pro Gly Val Ala Tyr Lys Gly Leu Met Ala Asn Glu
65 70 75 80

145

5	gtc gcg ctg tac gtt ctc ggt aag gtt tta cac ttt ggt ctt ctc ctc Val Ala Leu Tyr Val Leu Gly Lys Val Leu His Phe Gly Leu Leu Leu	288
	85 90 95	
10	ggc gtt cct gcg tac ttg cac gga ttg tcc aac gcg atc gtt cca ttc Gly Val Pro Ala Tyr Leu His Gly Leu Ser Asn Ala Ile Val Pro Phe	336
	100 105 110	
15	ttg gcg tac ggc gca ttc ggc tcc ttc gtc ctg tgc tgg ttc ttc atc Leu Ala Tyr Gly Ala Phe Gly Ser Phe Val Leu Cys Trp Phe Phe Ile	384
	115 120 125	
20	gtc agc cat aac ctc gaa gcg ctg aca ccc gtt aac ctt aac aag tcc Val Ser His Asn Leu Glu Ala Leu Thr Pro Val Asn Leu Asn Lys Ser	432
	130 135 140	
25	acg aag aac gac tgg ggg gcg tgg cag atc gag aca tcg gcg tct tgg Thr Lys Asn Asp Trp Gly Ala Trp Gln Ile Glu Thr Ser Ala Ser Trp	480
	145 150 155 160	
30	ggc aac gcg ttc tgg agc ttc ttc tct gga ggt ctg aac ctg caa atc Gly Asn Ala Phe Trp Ser Phe Phe Ser Gly Gly Leu Asn Leu Gln Ile	528
	165 170 175	
35	gag cac cac ctc ttc ccg ggc atg gcg cac aac ctg tac ccg aag atg Glu His His Leu Phe Pro Gly Met Ala His Asn Leu Tyr Pro Lys Met	576
	180 185 190	
40	gtg ccg atc atc aag gac gag tgt gcg aaa gcg ggc gtt cgc tac acc Val Pro Ile Ile Lys Asp Glu Cys Ala Lys Ala Gly Val Arg Tyr Thr	624
	195 200 205	
45	ggt tac ggt ggc tac acc ggc ctg ctc ccg atc acc cgc gac atg ttc Gly Tyr Gly Gly Tyr Thr Gly Leu Leu Pro Ile Thr Arg Asp Met Phe	672
	210 215 220	
50	tcc tac ctc cat aag tgt ggc cga acg gcg aaa cta gcc taa Ser Tyr Leu His Lys Cys Gly Arg Thr Ala Lys Leu Ala	714
	225 230 235	
55	<210> 94	
60	<211> 237	
	<212> PRT	
	<213> <i>Ostreococcus tauri</i>	
65	<400> 94	
70	Met Val Ser His His Ser Tyr Cys Asn Asp Ala Asp Leu Asp Gln Asp 1 5 10 15	
	Val Tyr Thr Ala Leu Pro Leu Leu Arg Leu Asp Pro Ser Gln Glu Leu 20 25 30	
	Lys Trp Phe His Arg Tyr Gln Ala Phe Tyr Ala Pro Leu Met Trp Pro 35 40 45	
	Phe Leu Trp Leu Ala Ala Gln Phe Gly Asp Ala Gln Asn Ile Leu Ile 50 55 60	
	Asp Arg Ala Ser Pro Gly Val Ala Tyr Lys Gly Leu Met Ala Asn Glu 65 70 75 80	

146

Val Ala Leu Tyr Val Leu Gly Lys Val Leu His Phe Gly Leu Leu Leu
85 90 95

5 Gly Val Pro Ala Tyr Leu His Gly Leu Ser Asn Ala Ile Val Pro Phe
100 105 110

10 Leu Ala Tyr Gly Ala Phe Gly Ser Phe Val Leu Cys Trp Phe Phe Ile
115 120 125

15 Val Ser His Asn Leu Glu Ala Leu Thr Pro Val Asn Leu Asn Lys Ser
130 135 140

20 Thr Lys Asn Asp Trp Gly Ala Trp Gln Ile Glu Thr Ser Ala Ser Trp
145 150 155 160

Gly Asn Ala Phe Trp Ser Phe Phe Ser Gly Gly Leu Asn Leu Gln Ile
165 170 175

25 Glu His His Leu Phe Pro Gly Met Ala His Asn Leu Tyr Pro Lys Met
180 185 190

30 Val Pro Ile Ile Lys Asp Glu Cys Ala Lys Ala Gly Val Arg Tyr Thr
195 200 205

35 Gly Tyr Gly Gly Tyr Thr Gly Leu Leu Pro Ile Thr Arg Asp Met Phe
210 215 220

40 Ser Tyr Leu His Lys Cys Gly Arg Thr Ala Lys Leu Ala
225 230 235

<210> 95

45 <211> 1611

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

50 <220>

55 <221> CDS

<222> (1)..(1611)

<223> Delta-4-Desaturase

60 <400> 95

65 atg tac ctc gga cgc ggc cgt ctc gag agc ggg acg acg cga ggg atg 48
Met Tyr Leu Gly Arg Gly Arg Leu Glu Ser Gly Thr Thr Arg Gly Met
1 5 10 15

atg cgg acg cac gcg cgg cga ccg tcg acg acg tcg aat ccg tgc gcg 96
Met Arg Thr His Ala Arg Arg Pro Ser Thr Thr Ser Asn Pro Cys Ala
20 25 30

70 cgg tca cgc gtg cgt aag acg acg gag cga tcg ctc gcg cga gtg cga 144
Arg Ser Arg Val Arg Lys Thr Thr Glu Arg Ser Leu Ala Arg Val Arg
35 40 45

147

5	cga	tcg	acg	agt	gag	aag	gga	agc	gcg	ctc	gtg	ctc	gag	cga	gag	agc	192
	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Lys	Gly	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Glu	Arg	Glu	Ser	
	50						55					60					
10	gaa	cgg	gag	aag	gag	gag	gga	ggg	aaa	gcg	cga	gcg	gag	gga	ttg	cga	240
	Glu	Arg	Glu	Lys	Glu	Glu	Gly	Gly	Lys	Ala	Arg	Ala	Glu	Gly	Leu	Arg	
	65					70				75					80		
15	ttc	caa	cgc	ccg	gac	gtc	gcc	gcg	ccg	ggg	gga	gcg	gat	cct	tgg	aac	288
	Phe	Gln	Arg	Pro	Asp	Val	Ala	Ala	Pro	Gly	Gly	Ala	Asp	Pro	Trp	Asn	
					85					90					95		
20	gac	gag	aag	tgg	aca	aag	acc	aag	tgg	acg	gta	ttc	aga	gac	gtc	gcg	336
	Asp	Glu	Lys	Trp	Thr	Lys	Thr	Lys	Trp	Thr	Val	Phe	Arg	Asp	Val	Ala	
				100					105					110			
25	tac	gat	ctc	gat	cct	ttc	ttc	gct	cga	cac	ccc	gga	gga	gac	tgg	ctc	384
	Tyr	Asp	Leu	Asp	Pro	Phe	Phe	Ala	Arg	His	Pro	Gly	Gly	Asp	Trp	Leu	
			115					120					125				
30	ctg	aac	ttg	gcc	gtg	gga	cga	gac	tgc	acc	gcg	ctc	atc	gaa	tcc	tat	432
	Leu	Asn	Leu	Ala	Val	Gly	Arg	Asp	Cys	Thr	Ala	Leu	Ile	Glu	Ser	Tyr	
		130					135					140					
35	cac	ttg	cga	cca	gag	gtg	gcg	acg	gct	cgt	ttc	aga	atg	ctg	ccc	aaa	480
	His	Leu	Arg	Pro	Glu	Val	Ala	Thr	Ala	Arg	Phe	Arg	Met	Leu	Pro	Lys	
		145				150					155					160	
40	ctc	gag	gat	ttt	ccc	gtc	gag	gcc	gtg	ccc	aag	tcc	ccg	aga	ccg	aac	528
	Leu	Glu	Asp	Phe	Pro	Val	Glu	Ala	Val	Pro	Lys	Ser	Pro	Arg	Pro	Asn	
					165					170					175		
45	gat	tcg	ccg	tta	tac	aac	aac	att	cgc	aac	cga	gtc	cgc	gaa	gag	ctc	576
	Asp	Ser	Pro	Leu	Tyr	Asn	Asn	Ile	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Glu	Leu	
				180					185					190			
50	ttc	cca	gag	gag	gga	aag	aat	atg	cac	aga	cag	ggc	ggc	gac	cac	ggc	624
	Phe	Pro	Glu	Glu	Gly	Lys	Asn	Met	His	Arg	Gln	Gly	Gly	Asp	His	Gly	
			195					200					205				
55	gac	ggt	gac	gat	tct	ggg	ttt	cgc	cgc	ctt	ttg	ctt	atg	ccg	tgt	acc	672
	Asp	Gly	Asp	Asp	Ser	Gly	Phe	Arg	Arg	Leu	Leu	Leu	Met	Pro	Cys	Thr	
		210				215						220					
60	tat	tcc	ctt	ccg	ggg	gtt	cct	ttc	cgg	ctg	cct	cct	cgg	gtc	tcg	cgg	720
	Tyr	Ser	Leu	Pro	Gly	Val	Pro	Phe	Arg	Leu	Pro	Pro	Arg	Val	Ser	Arg	
		225				230					235					240	
65	ggg	cgt	gga	ttg	gtc	tca	cga	ttc	agg	cac	tgc	gcc	aac	cac	ggc	gcg	768
	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	Ser	Arg	Phe	Arg	His	Cys	Ala	Asn	His	Gly	Ala	
					245					250					255		
70	atg	tct	cct	tcg	ccg	gcc	gtt	aac	ggc	gtc	ctc	ggt	ttg	acg	aac	gat	816
	Met	Ser	Pro	Ser	Pro	Ala	Val	Asn	Gly	Val	Leu	Gly	Leu	Thr	Asn	Asp	
				260					265					270			
75	ctc	atc	ggc	ggc	tcg	tcc	ttg	atg	tgg	aga	tat	cac	cac	caa	gtc	agc	864
	Leu	Ile	Gly	Gly	Ser	Ser	Leu	Met	Trp	Arg	Tyr	His	His	Gln	Val	Ser	
			275					280					285				
80	cac	cac	att	cat	tgc	aac	gac	aac	gcc	atg	gat	caa	gac	gtg	tac	acg	912
	His	His	Ile	His	Cys	Asn	Asp	Asn	Ala	Met	Asp	Gln	Asp	Val	Tyr	Thr	
			290				295					300					
85	gcg	atg	cca	tta	ttg	cgt	ttc	gac	gct	cgc	cgg	ccc	aag	tcc	tgg	tac	960
	Ala	Met	Pro	Leu	Leu	Arg	Phe	Asp	Ala	Arg	Arg	Pro	Lys	Ser	Trp	Tyr	
		305				310					315					320	
90	cat	cgc	ttc	cag	cag	tgg	tac	atg	ttt	tta	gcg	ttc	ccg	ttg	ttg	cag	1008
	His	Arg	Phe	Gln	Gln	Trp	Tyr	Met	Phe	Leu	Ala	Phe	Pro	Leu	Leu	Gln	
					325					330						335	

148

	gtt gcc ttc caa gtc gga gac att gcc gca ctg ttc acg cgt gat acc	1056
	Val Ala Phe Gln Val Gly Asp Ile Ala Ala Leu Phe Thr Arg Asp Thr	
	340 345 350	
5	gaa ggc gct aag ctt cac ggg gcg acg acg tgg gag ctt acc acg gtt	1104
	Glu Gly Ala Lys Leu His Gly Ala Thr Thr Trp Glu Leu Thr Thr Val	
	355 360 365	
10	gtc ctc ggt aag att gtg cac ttc ggt ctt ttg ttg ggg ccg ttg atg	1152
	Val Leu Gly Lys Ile Val His Phe Gly Leu Leu Leu Gly Pro Leu Met	
	370 375 380	
15	aac cac gcg gtg agt tct gtt ttg ctg ggg atc gtc ggt ttc atg gcg	1200
	Asn His Ala Val Ser Ser Val Leu Leu Gly Ile Val Gly Phe Met Ala	
	385 390 395 400	
20	tgc caa ggt ata gtt ctg gcg tgc acg ttt gct gtg agt cac aat gtc	1248
	Cys Gln Gly Ile Val Leu Ala Cys Thr Phe Ala Val Ser His Asn Val	
	405 410 415	
25	gcg gag gcg aag ata cct gag gac acc gga gga gaa gcc tgg gag aga	1296
	Ala Glu Ala Lys Ile Pro Glu Asp Thr Gly Gly Glu Ala Trp Glu Arg	
	420 425 430	
30	gat tgg ggt gtc cag cag ttg gtg act agc gcc gac tgg ggt gga aag	1344
	Asp Trp Gly Val Gln Gln Leu Val Thr Ser Ala Asp Trp Gly Gly Lys	
	435 440 445	
35	ata ggt aac ttc ttc acg ggt ggc ctc aac ttg caa gtt gag cac cac	1392
	Ile Gly Asn Phe Phe Thr Gly Gly Leu Asn Leu Gln Val Glu His His	
	450 455 460	
40	ttg ttt ccg gcg att tgc ttc gtc cac tac ccg gac atc gcg aag atc	1440
	Leu Phe Pro Ala Ile Cys Phe Val His Tyr Pro Asp Ile Ala Lys Ile	
	465 470 475 480	
45	gtg aag gaa gaa gcg gcc aag ctc aac atc cct tac gcg tct tac agg	1488
	Val Lys Glu Glu Ala Ala Lys Leu Asn Ile Pro Tyr Ala Ser Tyr Arg	
	485 490 495	
50	act ctt cct ggt att ttc gtc caa ttc tgg aga ttt atg aag gac atg	1536
	Thr Leu Pro Gly Ile Phe Val Gln Phe Trp Arg Phe Met Lys Asp Met	
	500 505 510	
55	ggc acg gct gag caa att ggt gaa gtt cca ttg ccg aag att ccc aac	1584
	Gly Thr Ala Glu Gln Ile Gly Glu Val Pro Leu Pro Lys Ile Pro Asn	
	515 520 525	
60	ccg cag ctc gcg ccg aag ctc gct tag	1611
	Pro Gln Leu Ala Pro Lys Leu Ala	
	530 535	
65	<210> 96	
	<211> 536	
	<212> PRT	
70	<213> Ostreococcus tauri	
	<400> 96	
	Met Tyr Leu Gly Arg Gly Arg Leu Glu Ser Gly Thr Thr Arg Gly Met	
	1 5 10 15	
	Met Arg Thr His Ala Arg Arg Pro Ser Thr Thr Ser Asn Pro Cys Ala	
	20 25 30	

149

Arg Ser Arg Val Arg Lys Thr Thr Glu Arg Ser Leu Ala Arg Val Arg
 35 40 45
 5 Arg Ser Thr Ser Glu Lys Gly Ser Ala Leu Val Leu Glu Arg Glu Ser
 50 55 60
 10 Glu Arg Glu Lys Glu Glu Gly Gly Lys Ala Arg Ala Glu Gly Leu Arg
 65 70 75 80
 15 Phe Gln Arg Pro Asp Val Ala Ala Pro Gly Gly Ala Asp Pro Trp Asn
 85 90 95
 Asp Glu Lys Trp Thr Lys Thr Lys Trp Thr Val Phe Arg Asp Val Ala
 100 105 110
 20 Tyr Asp Leu Asp Pro Phe Phe Ala Arg His Pro Gly Gly Asp Trp Leu
 115 120 125
 25 Leu Asn Leu Ala Val Gly Arg Asp Cys Thr Ala Leu Ile Glu Ser Tyr
 130 135 140
 30 His Leu Arg Pro Glu Val Ala Thr Ala Arg Phe Arg Met Leu Pro Lys
 145 150 155 160
 35 Leu Glu Asp Phe Pro Val Glu Ala Val Pro Lys Ser Pro Arg Pro Asn
 165 170 175
 Asp Ser Pro Leu Tyr Asn Asn Ile Arg Asn Arg Val Arg Glu Glu Leu
 180 185 190
 40 Phe Pro Glu Glu Gly Lys Asn Met His Arg Gln Gly Gly Asp His Gly
 195 200 205
 45 Asp Gly Asp Asp Ser Gly Phe Arg Arg Leu Leu Leu Met Pro Cys Thr
 210 215 220
 50 Tyr Ser Leu Pro Gly Val Pro Phe Arg Leu Pro Pro Arg Val Ser Arg
 225 230 235 240
 55 Gly Arg Gly Leu Val Ser Arg Phe Arg His Cys Ala Asn His Gly Ala
 245 250 255
 Met Ser Pro Ser Pro Ala Val Asn Gly Val Leu Gly Leu Thr Asn Asp
 260 265 270
 60 Leu Ile Gly Gly Ser Ser Leu Met Trp Arg Tyr His His Gln Val Ser
 275 280 285
 65 His His Ile His Cys Asn Asp Asn Ala Met Asp Gln Asp Val Tyr Thr
 290 295 300
 70 Ala Met Pro Leu Leu Arg Phe Asp Ala Arg Arg Pro Lys Ser Trp Tyr
 305 310 315 320
 His Arg Phe Gln Gln Trp Tyr Met Phe Leu Ala Phe Pro Leu Leu Gln

150

325

330

335

5 Val Ala Phe Gln Val Gly Asp Ile Ala Ala Leu Phe Thr Arg Asp Thr
340 345 350

10 Glu Gly Ala Lys Leu His Gly Ala Thr Thr Trp Glu Leu Thr Thr Val
355 360 365

15 Val Leu Gly Lys Ile Val His Phe Gly Leu Leu Leu Gly Pro Leu Met
370 375 380

20 Asn His Ala Val Ser Ser Val Leu Leu Gly Ile Val Gly Phe Met Ala
385 390 395 400

25 Cys Gln Gly Ile Val Leu Ala Cys Thr Phe Ala Val Ser His Asn Val
405 410 415

30 Ala Glu Ala Lys Ile Pro Glu Asp Thr Gly Gly Glu Ala Trp Glu Arg
420 425 430

35 Asp Trp Gly Val Gln Gln Leu Val Thr Ser Ala Asp Trp Gly Gly Lys
435 440 445

40 Ile Gly Asn Phe Phe Thr Gly Gly Leu Asn Leu Gln Val Glu His His
450 455 460

45 Leu Phe Pro Ala Ile Cys Phe Val His Tyr Pro Asp Ile Ala Lys Ile
465 470 475 480

50 Val Lys Glu Glu Ala Ala Lys Leu Asn Ile Pro Tyr Ala Ser Tyr Arg
485 490 495

55 Thr Leu Pro Gly Ile Phe Val Gln Phe Trp Arg Phe Met Lys Asp Met
500 505 510

60 Gly Thr Ala Glu Gln Ile Gly Glu Val Pro Leu Pro Lys Ile Pro Asn
515 520 525

65 Pro Gln Leu Ala Pro Lys Leu Ala
530 535

70 <210> 97
<211> 1455
<212> DNA
<213> Thalassiosira pseudonana

<220>
<221> CDS
<222> (1) .. (1455)
<223> Delta-6-Desaturase

151

<400> 97		
5	atg gga aaa gga gga gac gca gcc gca gct acc aag cgt agt gga gca Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Ala Ala Thr Lys Arg Ser Gly Ala 1 5 10 15	48
10	ttg aaa ttg gcg gag aag ccg cag aag tac act tgg cag gag gtg aag Leu Lys Leu Ala Glu Lys Pro Gln Lys Tyr Thr Trp Gln Glu Val Lys 20 25 30	96
15	aag cac atc acc ccc gac gat gcc tgg gta gtc cac caa aac aaa gtc Lys His Ile Thr Pro Asp Asp Ala Trp Val Val His Gln Asn Lys Val 35 40 45	144
20	tac gac gtc tcc aac tgg tac gac cac ccc ggt gga gcc gtg gtg ttc Tyr Asp Val Ser Asn Trp Tyr Asp His Pro Gly Ala Val Val Phe 50 55 60	192
25	acc cac gcc gga gac gac atg acg gac atc ttc gcc gcc ttc cac gcc Thr His Ala Gly Asp Asp Met Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala 65 70 75 80	240
30	caa ggc tct cag gcc atg atg aag aag ttt tac att gga gat ttg att Gln Gly Ser Gln Ala Met Met Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Asp Leu Ile 85 90 95	288
35	ccg gag agt gtg gag cat aag gat caa aga cag ttg gat ttc gag aag Pro Glu Ser Val Glu His Lys Asp Gln Arg Gln Leu Asp Phe Glu Lys 100 105 110	336
40	gga tat cgt gat tta cgg gcc aag ctt gtc atg atg ggg atg ttc aag Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ala Lys Leu Val Met Met Gly Met Phe Lys 115 120 125	384
45	tcg agt aag atg tat tat gca tac aag tgc tcg ttc aat atg tgc atg Ser Ser Lys Met Tyr Tyr Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Asn Met Cys Met 130 135 140	432
50	tggt ttg gtg gcg gtg gcc atg gtg tac tac tcg gac agt ttg gca atg Trp Leu Val Ala Val Ala Met Val Tyr Tyr Ser Asp Ser Leu Ala Met 145 150 155 160	480
55	cac att gga tcg gct ctc ttg ttg gga ttg ttc tgg cag cag tgt gga His Ile Gly Ser Ala Leu Leu Leu Gly Leu Phe Trp Gln Gln Cys Gly 165 170 175	528
60	tggt ctt gcg cac gac ttt ctt cac cac caa gtc ttt aag caa cga aag Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His His Gln Val Phe Lys Gln Arg Lys 180 185 190	576
65	tac gga gat ctc gtt ggc atc ttt tgg gga gat ctc atg cag ggg ttc Tyr Gly Asp Leu Val Gly Ile Phe Trp Gly Asp Leu Met Gln Gly Phe 195 200 205	624
70	tcg atg cag tgg tgg aag aac aag cac aat ggc cac cat gct gtt ccc Ser Met Gln Trp Trp Lys Asn Lys His Asn Gly His His Ala Val Pro 210 215 220	672
75	aac ttg cac aac tct tcc ttg gac agt cag gat ggt gat ccc gat att Asn Leu His Asn Ser Ser Leu Asp Ser Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile 225 230 235 240	720
80	gat acc atg cca ctc ctt gct tgg agt ctc aag cag gct cag agt ttc Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp Ser Leu Lys Gln Ala Gln Ser Phe 245 250 255	768
85	aga gag atc aat aag gga aag gac agt acc ttc gtc aag tac gct atc Arg Glu Ile Asn Lys Gly Lys Asp Ser Thr Phe Val Lys Tyr Ala Ile 260 265 270	816
90	aaa ttc cag gca ttc aca tac ttc ccc atc ctc ctc ttg gct cgc atc Lys Phe Gln Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Ile	864

152

	275	280	285	
5	tct tgg ttg aat gaa tcc ttc aaa act gca ttc gga ctc gga gct gcc Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe Lys Thr Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala 290 295 300			912
10	tcg gag aat gcc aag ttg gag ttg gag aag cgt gga ctt cag tac cca Ser Glu Asn Ala Lys Leu Glu Leu Glu Lys Arg Gly Leu Gln Tyr Pro 305 310 315 320			960
15	ctt ttg gag aag ctt gga atc acc ctt cat tac act tgg atg ttc gtc Leu Leu Glu Lys Leu Gly Ile Thr Leu His Tyr Thr Trp Met Phe Val 325 330 335			1008
20	ctc tct tcc gga ttt gga agg tgg tct ctt cca tat tcc atc atg tat Leu Ser Ser Gly Phe Gly Arg Trp Ser Leu Pro Tyr Ser Ile Met Tyr 340 345 350			1056
25	ttc ttc act gcc aca tgc tcc tcg gga ctt ttc ctc gca ttg gtc ttt Phe Phe Thr Ala Thr Cys Ser Ser Gly Leu Phe Leu Ala Leu Val Phe 355 360 365			1104
30	gga ttg gga cac aac ggt atg tca gtg tac gat gcc acc acc cga cct Gly Leu Gly His Asn Gly Met Ser Val Tyr Asp Ala Thr Thr Arg Pro 370 375 380			1152
35	gac ttc tgg caa ctc caa gtc acc act aca cgt aac atc att ggt gga Asp Phe Trp Gln Leu Gln Val Thr Thr Thr Arg Asn Ile Ile Gly Gly 385 390 395 400			1200
40	cac ggc att ccc caa ttc ttt gtg gat tgg ttc tgc ggt gga ttg caa His Gly Ile Pro Gln Phe Phe Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln 405 410 415			1248
45	tac caa gtg gat cac cac ctc ttc ccc atg atg cct aga aac aat atc Tyr Gln Val Asp His His Leu Phe Pro Met Met Pro Arg Asn Asn Ile 420 425 430			1296
50	gcg aaa tgc cac aag ctt gtg gag tca ttc tgt aag gag tgg ggt gtg Ala Lys Cys His Lys Leu Val Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val 435 440 445			1344
55	aag tac cat gag gcc gat atg tgg gat ggt acc gtg gaa gtg ttg caa Lys Tyr His Glu Ala Asp Met Trp Asp Gly Thr Val Glu Val Leu Gln 450 455 460			1392
60	cat ctc tcc aag gtg tcg gat gat ttc ctt gtg gag atg gtg aag gat His Leu Ser Lys Val Ser Asp Asp Phe Leu Val Glu Met Val Lys Asp 465 470 475 480			1440
65	ttc cct gcc atg taa Phe Pro Ala Met			1455
70	<210> 98 <211> 484 <212> PRT <213> <i>Thalassiosira pseudonana</i> <400> 98 Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Ala Ala Thr Lys Arg Ser Gly Ala 1 5 10 15 Leu Lys Leu Ala Glu Lys Pro Gln Lys Tyr Thr Trp Gln Glu Val Lys 20 25 30			

153

5 Lys His Ile Thr Pro Asp Asp Ala Trp Val Val His Gln Asn Lys Val
 35 40 45
 Tyr Asp Val Ser Asn Trp Tyr Asp His Pro Gly Gly Ala Val Val Phe
 50 55 60
 10 Thr His Ala Gly Asp Asp Met Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala
 65 70 75 80
 15 Gln Gly Ser Gln Ala Met Met Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Asp Leu Ile
 85 90 95
 20 Pro Glu Ser Val Glu His Lys Asp Gln Arg Gln Leu Asp Phe Glu Lys
 100 105 110
 25 Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ala Lys Leu Val Met Met Gly Met Phe Lys
 115 120 125
 Ser Ser Lys Met Tyr Tyr Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Asn Met Cys Met
 130 135 140
 30 Trp Leu Val Ala Val Ala Met Val Tyr Tyr Ser Asp Ser Leu Ala Met
 145 150 155 160
 35 His Ile Gly Ser Ala Leu Leu Leu Gly Leu Phe Trp Gln Gln Cys Gly
 165 170 175
 40 Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His His Gln Val Phe Lys Gln Arg Lys
 180 185 190
 45 Tyr Gly Asp Leu Val Gly Ile Phe Trp Gly Asp Leu Met Gln Gly Phe
 195 200 205
 Ser Met Gln Trp Trp Lys Asn Lys His Asn Gly His His Ala Val Pro
 210 215 220
 Asn Leu His Asn Ser Ser Leu Asp Ser Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile
 225 230 235 240
 55 Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp Ser Leu Lys Gln Ala Gln Ser Phe
 245 250 255
 60 Arg Glu Ile Asn Lys Gly Lys Asp Ser Thr Phe Val Lys Tyr Ala Ile
 260 265 270
 65 Lys Phe Gln Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Ile
 275 280 285
 Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe Lys Thr Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala
 290 295 300
 70 Ser Glu Asn Ala Lys Leu Glu Leu Glu Lys Arg Gly Leu Gln Tyr Pro
 305 310 315 320

154

Leu Leu Glu Lys Leu Gly Ile Thr Leu His Tyr Thr Trp Met Phe Val
 325 330 335
 5 Leu Ser Ser Gly Phe Gly Arg Trp Ser Leu Pro Tyr Ser Ile Met Tyr
 340 345 350
 10 Phe Phe Thr Ala Thr Cys Ser Ser Gly Leu Phe Leu Ala Leu Val Phe
 355 360 365
 15 Gly Leu Gly His Asn Gly Met Ser Val Tyr Asp Ala Thr Thr Arg Pro
 370 375 380
 20 Asp Phe Trp Gln Leu Gln Val Thr Thr Thr Arg Asn Ile Ile Gly Gly
 385 390 395 400
 His Gly Ile Pro Gln Phe Phe Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln
 405 410 415
 25 Tyr Gln Val Asp His His Leu Phe Pro Met Met Pro Arg Asn Asn Ile
 420 425 430
 30 Ala Lys Cys His Lys Leu Val Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val
 435 440 445
 35 Lys Tyr His Glu Ala Asp Met Trp Asp Gly Thr Val Glu Val Leu Gln
 450 455 460
 40 His Leu Ser Lys Val Ser Asp Asp Phe Leu Val Glu Met Val Lys Asp
 465 470 475 480
 Phe Pro Ala Met
 45 <210> 99
 <211> 1431
 <212> DNA
 <213> *Thalassiosira pseudonana*
 55 <220>
 <221> CDS
 60 <222> (1)..(1431)
 <223> Delta-5-Desaturase
 65 <400> 99
 atg ccc ccc aac gcc gat atc tcc cgc atc cgc aac cgc atc ccc acc 48
 Met Pro Pro Asn Ala Asp Ile Ser Arg Ile Arg Asn Arg Ile Pro Thr
 1 5 10 15
 70 aaa aca ggt acc gtt gcc tct gcc gac aac aac gac ccc gcc acc caa 96
 Lys Thr Gly Thr Val Ala Ser Ala Asp Asn Asn Asp Pro Ala Thr Gln
 20 25 30

155

5	tcc gtc cga acc ctc aaa tct ctc aag ggc aac gag gtc gtc atc aac Ser Val Arg Thr Leu Lys Ser Leu Lys Gly Asn Glu Val Val Ile Asn 35 40 45	144
10	ggc aca att tat gac att gct gac ttt gtc cat cct gga gga gag gtt Gly Thr Ile Tyr Asp Ile Ala Asp Phe Val His Pro Gly Gly Glu Val 50 55 60	192
15	gtc aag ttc ttt ggt ggg aat gat gtt act att cag tat aat atg att Val Lys Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr Ile Gln Tyr Asn Met Ile 65 70 75 80	240
20	cat ccg tat cat acg ggg aaa cat ctg gag aag atg aag gct gtt gga His Pro Tyr His Thr Gly Lys His Leu Glu Lys Met Lys Ala Val Gly 85 90 95	288
25	aag gtt gta gat tgg cag tcg gac tac aag ttc gac acc ccc ttt gaa Lys Val Val Asp Trp Gln Ser Asp Tyr Lys Phe Asp Thr Pro Phe Glu 100 105 110	336
30	cga gag atc aaa tca gaa gtg ttc aag atc gta cgt cgc ggg cgt gag Arg Glu Ile Lys Ser Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Arg Glu 115 120 125	384
35	ttc ggc aca aca ggc tac ttc ctc cgt gcc ttt ttc tac atc gct ctc Phe Gly Thr Thr Gly Tyr Phe Leu Arg Ala Phe Phe Tyr Ile Ala Leu 130 135 140	432
40	ttc ttc acc atg caa tac act ttc gcc aca tgc acc acc ttc acc acc Phe Phe Thr Met Gln Tyr Thr Phe Ala Thr Cys Thr Thr Phe Thr Thr 145 150 155 160	480
45	tac gat cac tgg tat cag agt ggt gta ttc atc gca att gtg ttt ggt Tyr Asp His Trp Tyr Gln Ser Gly Val Phe Ile Ala Ile Val Phe Gly 165 170 175	528
50	att tca cag gca ttc att ggg ttg aat gtc cag cac gat gcc aat cac Ile Ser Gln Ala Phe Ile Gly Leu Asn Val Gln His Asp Ala Asn His 180 185 190	576
55	gga gct gcc agt aag cgt ccc tgg gtg aat gac ttg ttg gga ttt gga Gly Ala Ala Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Leu Leu Gly Phe Gly 195 200 205	624
60	acg gat ttg att gga tct aac aaa tgg aat tgg atg gca cag cat tgg Thr Asp Leu Ile Gly Ser Asn Lys Trp Asn Trp Met Ala Gln His Trp 210 215 220	672
65	act cat cac gct tac act aac cat agt gag aag gat ccc gat agc ttc Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ser Glu Lys Asp Pro Asp Ser Phe 225 230 235 240	720
70	agc tcg gaa cct atg ttt gca ttc aat gac tat ccc att gga cac ccg Ser Ser Glu Pro Met Phe Ala Phe Asn Asp Tyr Pro Ile Gly His Pro 245 250 255	768
75	aag aga aag tgg tgg cat agg ttc cag gga ggg tac ttc ctc ttc atg Lys Arg Lys Trp Trp His Arg Phe Gln Gly Gly Tyr Phe Leu Phe Met 260 265 270	816
80	ctt gga ctt tac tgg ctc tcg act gta ttc aat ccg caa ttc att gat Leu Gly Leu Tyr Trp Leu Ser Thr Val Phe Asn Pro Gln Phe Ile Asp 275 280 285	864
85	ctt cgt caa cgt ggg gct cag tac gtc gga att caa atg gag aat gat Leu Arg Gln Arg Gly Ala Gln Tyr Val Gly Ile Gln Met Glu Asn Asp 290 295 300	912
90	ttc att gtc aag agg agg aag tac gcc gtt gca ttg agg atg atg tac Phe Ile Val Lys Arg Arg Lys Tyr Ala Val Ala Leu Arg Met Met Tyr 305 310 315 320	960

156

	att tac ttg aac att gtc agc ccc ttc atg aac aat ggt ttg agc tgg	1008
	Ile Tyr Leu Asn Ile Val Ser Pro Phe Met Asn Asn Gly Leu Ser Trp	
	325 330 335	
5	tct acc ttt gga atc atc atg ttg atg gga atc agc gag agt ctc act	1056
	Ser Thr Phe Gly Ile Ile Met Leu Met Gly Ile Ser Glu Ser Leu Thr	
	340 345 350	
10	ctc agt gtg ctc ttc tcg ttg tct cac aac ttc atc aat tcg gat cgt	1104
	Leu Ser Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe Ile Asn Ser Asp Arg	
	355 360 365	
15	gat cct acg gct gac ttc aaa aag acc gga gaa caa gtg tgc tgg ttc	1152
	Asp Pro Thr Ala Asp Phe Lys Lys Thr Gly Glu Gln Val Cys Trp Phe	
	370 375 380	
20	aag tcg cag gtg gag act tcg tct acc tat ggg ggt ttt att tcc gga	1200
	Lys Ser Gln Val Glu Thr Ser Ser Thr Tyr Gly Gly Phe Ile Ser Gly	
	385 390 395 400	
25	tgt ctt acg gga gga ctc aac ttt cag gtg gaa cat cat ctc ttt ccc	1248
	Cys Leu Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu His His Leu Phe Pro	
	405 410 415	
30	cgt atg agc agt gct tgg tat cct tac att gca cct acg gtt cgt gag	1296
	Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala Pro Thr Val Arg Glu	
	420 425 430	
35	gtt tgc aag aag cac ggg gtg aac tac gct tat tat cct tgg att ggg	1344
	Val Cys Lys Lys His Gly Val Asn Tyr Ala Tyr Tyr Pro Trp Ile Gly	
	435 440 445	
40	cag aat ttg gta tca aca ttc aaa tac atg cat cgc gct ggt agt gga	1392
	Gln Asn Leu Val Ser Thr Phe Lys Tyr Met His Arg Ala Gly Ser Gly	
	450 455 460	
45	gcc aac tgg gag ctc aag ccg ttg tct gga agt gcc taa	1431
	Ala Asn Trp Glu Leu Lys Pro Leu Ser Gly Ser Ala	
	465 470 475	
50	<210> 100	
	<211> 476	
	<212> PRT	
	<213> Thalassiosira pseudonana	
55	<400> 100	
	Met Pro Pro Asn Ala Asp Ile Ser Arg Ile Arg Asn Arg Ile Pro Thr	
	1 5 10 15	
60	Lys Thr Gly Thr Val Ala Ser Ala Asp Asn Asn Asp Pro Ala Thr Gln	
	20 25 30	
65	Ser Val Arg Thr Leu Lys Ser Leu Lys Gly Asn Glu Val Val Ile Asn	
	35 40 45	
70	Gly Thr Ile Tyr Asp Ile Ala Asp Phe Val His Pro Gly Gly Glu Val	
	50 55 60	
	Val Lys Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr Ile Gln Tyr Asn Met Ile	
	65 70 75 80	

157

	His	Pro	Tyr	His	Thr	Gly	Lys	His	Leu	Glu	Lys	Met	Lys	Ala	Val	Gly
					85					90					95	
5	Lys	Val	Val	Asp	Trp	Gln	Ser	Asp	Tyr	Lys	Phe	Asp	Thr	Pro	Phe	Glu
				100					105					110		
10	Arg	Glu	Ile	Lys	Ser	Glu	Val	Phe	Lys	Ile	Val	Arg	Arg	Gly	Arg	Glu
			115					120					125			
15	Phe	Gly	Thr	Thr	Gly	Tyr	Phe	Leu	Arg	Ala	Phe	Phe	Tyr	Ile	Ala	Leu
		130						135					140			
20	Phe	Phe	Thr	Met	Gln	Tyr	Thr	Phe	Ala	Thr	Cys	Thr	Thr	Phe	Thr	Thr
	145					150					155					160
25	Tyr	Asp	His	Trp	Tyr	Gln	Ser	Gly	Val	Phe	Ile	Ala	Ile	Val	Phe	Gly
					165					170					175	
30	Ile	Ser	Gln	Ala	Phe	Ile	Gly	Leu	Asn	Val	Gln	His	Asp	Ala	Asn	His
				180					185					190		
35	Gly	Ala	Ala	Ser	Lys	Arg	Pro	Trp	Val	Asn	Asp	Leu	Leu	Gly	Phe	Gly
			195					200					205			
40	Thr	Asp	Leu	Ile	Gly	Ser	Asn	Lys	Trp	Asn	Trp	Met	Ala	Gln	His	Trp
		210					215					220				
45	Thr	His	His	Ala	Tyr	Thr	Asn	His	Ser	Glu	Lys	Asp	Pro	Asp	Ser	Phe
	225					230					235					240
50	Ser	Ser	Glu	Pro	Met	Phe	Ala	Phe	Asn	Asp	Tyr	Pro	Ile	Gly	His	Pro
					245					250					255	
55	Lys	Arg	Lys	Trp	Trp	His	Arg	Phe	Gln	Gly	Gly	Tyr	Phe	Leu	Phe	Met
				260					265					270		
60	Leu	Gly	Leu	Tyr	Trp	Leu	Ser	Thr	Val	Phe	Asn	Pro	Gln	Phe	Ile	Asp
			275					280					285			
65	Leu	Arg	Gln	Arg	Gly	Ala	Gln	Tyr	Val	Gly	Ile	Gln	Met	Glu	Asn	Asp
		290					295					300				
70	Phe	Ile	Val	Lys	Arg	Arg	Lys	Tyr	Ala	Val	Ala	Leu	Arg	Met	Met	Tyr
	305					310					315					320
75	Ile	Tyr	Leu	Asn	Ile	Val	Ser	Pro	Phe	Met	Asn	Asn	Gly	Leu	Ser	Trp
				325						330					335	
80	Ser	Thr	Phe	Gly	Ile	Ile	Met	Leu	Met	Gly	Ile	Ser	Glu	Ser	Leu	Thr
				340					345					350		
85	Leu	Ser	Val	Leu	Phe	Ser	Leu	Ser	His	Asn	Phe	Ile	Asn	Ser	Asp	Arg
			355					360					365			
90	Asp	Pro	Thr	Ala	Asp	Phe	Lys	Lys	Thr	Gly	Glu	Gln	Val	Cys	Trp	Phe

158

[illegible]

159

	Lys	Met	Arg	Ala	Val	Gly	Lys	Ile	Ala	Asp	Tyr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Lys	
				100					105					110			
5	ttc	gac	aca	ccc	ttt	gaa	cga	gag	atc	aaa	tcc	gaa	gtg	ttc	aaa	atc	384
	Phe	Asp	Thr	Pro	Phe	Glu	Arg	Glu	Ile	Lys	Ser	Glu	Val	Phe	Lys	Ile	
			115					120					125				
10	gtc	cgt	cga	gga	cgt	gaa	ttc	ggg	aca	aca	gga	tat	ttc	ctc	cgt	gcc	432
	Val	Arg	Arg	Gly	Arg	Glu	Phe	Gly	Thr	Thr	Gly	Tyr	Phe	Leu	Arg	Ala	
			130					135				140					
15	ttc	ttc	tac	att	gct	ctc	ttc	ttc	acc	atg	caa	tac	acc	ttc	gcc	aca	480
	Phe	Phe	Tyr	Ile	Ala	Leu	Phe	Phe	Thr	Met	Gln	Tyr	Thr	Phe	Ala	Thr	
	145					150					155					160	
	tgc	act	acc	ttc	acc	acc	tac	gat	cat	tgg	tat	caa	agt	ggg	gta	ttc	528
	Cys	Thr	Thr	Phe	Thr	Thr	Tyr	Asp	His	Trp	Tyr	Gln	Ser	Gly	Val	Phe	
					165					170					175		
20	atc	gcc	att	gtg	ttt	ggg	atc	tca	caa	gct	ttc	att	ggg	ttg	aat	gta	576
	Ile	Ala	Ile	Val	Phe	Gly	Ile	Ser	Gln	Ala	Phe	Ile	Gly	Leu	Asn	Val	
				180					185					190			
25	caa	cat	gat	gcc	aat	cac	gga	gct	gct	agc	aaa	cga	cct	tgg	gtg	aat	624
	Gln	His	Asp	Ala	Asn	His	Gly	Ala	Ala	Ser	Lys	Arg	Pro	Trp	Val	Asn	
			195					200					205				
30	gat	ctc	ctt	gga	tct	gga	gct	gat	ctc	atc	ggg	gga	tgc	aaa	tgg	aac	672
	Asp	Leu	Leu	Gly	Ser	Gly	Ala	Asp	Leu	Ile	Gly	Gly	Cys	Lys	Trp	Asn	
		210					215					220					
35	tgg	ttg	gct	cag	cat	tgg	act	cat	cat	gcg	tat	acc	aat	cac	gct	gat	720
	Trp	Leu	Ala	Gln	His	Trp	Thr	His	His	Ala	Tyr	Thr	Asn	His	Ala	Asp	
	225					230					235					240	
	aaa	gat	cct	gat	agc	ttt	agt	tcc	gag	cgc	gtc	ttc	aac	ttt	aac	gat	768
	Lys	Asp	Pro	Asp	Ser	Phe	Ser	Ser	Glu	Pro	Val	Phe	Asn	Phe	Asn	Asp	
					245					250					255		
40	tat	ccc	att	ggg	cac	ccc	aaa	aga	aag	tgg	tgg	cat	agg	ttc	caa	ggg	816
	Tyr	Pro	Ile	Gly	His	Pro	Lys	Arg	Lys	Trp	Trp	His	Arg	Phe	Gln	Gly	
				260					265					270			
45	ctc	tac	ttc	cta	atc	atg	ctg	agt	ttc	tat	tgg	gta	tgc	atg	gta	ttc	864
	Leu	Tyr	Phe	Leu	Ile	Met	Leu	Ser	Phe	Tyr	Trp	Val	Ser	Met	Val	Phe	
			275					280					285				
50	aac	cca	caa	gtt	atc	gac	ctc	cgt	cat	gct	gga	gct	gcc	tac	gtt	gga	912
	Asn	Pro	Gln	Val	Ile	Asp	Leu	Arg	His	Ala	Gly	Ala	Ala	Tyr	Val	Gly	
		290					295					300					
55	ttt	cag	atg	gag	aac	gac	ttt	atc	gtc	aaa	cgg	aga	aag	tat	gca	atg	960
	Phe	Gln	Met	Glu	Asn	Asp	Phe	Ile	Val	Lys	Arg	Arg	Lys	Tyr	Ala	Met	
	305					310					315					320	
	gca	ctt	cgt	gca	atg	tac	ttc	tat	ttc	aac	atc	tat	tgt	cgc	att	gtc	1008
	Ala	Leu	Arg	Ala	Met	Tyr	Phe	Tyr	Phe	Asn	Ile	Tyr	Cys	Pro	Ile	Val	
					325					330					335		
60	aac	aat	gga	ttg	act	tgg	tcg	aca	gtt	gga	atc	atc	ctc	tta	atg	gga	1056
	Asn	Asn	Gly	Leu	Thr	Trp	Ser	Thr	Val	Gly	Ile	Ile	Leu	Leu	Met	Gly	
				340					345					350			
65	gtt	agc	gaa	agc	ttc	atg	ctc	tcc	ggg	cta	ttc	gta	ctc	tca	cac	aac	1104
	Val	Ser	Glu	Ser	Phe	Met	Leu	Ser	Gly	Leu	Phe	Val	Leu	Ser	His	Asn	
			355					360					365				
70	ttt	gaa	aat	tcc	gaa	cgt	gat	cct	acc	tct	gag	tat	cgc	aag	act	ggg	1152
	Phe	Glu	Asn	Ser	Glu	Arg	Asp	Pro	Thr	Ser	Glu	Tyr	Arg	Lys	Thr	Gly	
		370					375					380					
	gag	caa	gta	tgt	tgg	ttc	aag	tct	caa	gtg	gag	act	tct	tct	acc	tac	1200
	Glu	Gln	Val	Cys	Trp	Phe	Lys	Ser	Gln	Val	Glu	Thr	Ser	Ser	Thr	Tyr	

160

	385	390	395	400	
5	gga ggt atc gtt gct ggg tgt ctc act ggt gga ctc aac ttt caa gtg Gly Gly Ile Val Ala Gly Cys Leu Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val 405 410 415	1248			
10	gag cat cat ttg ttc ccg agg atg agc agt gct tgg tat cct ttc atc Glu His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Phe Ile 420 425 430	1296			
15	gcg ccg aag gtt aga gag att tgt aag aag cat gga gtt aga tac gct Ala Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Lys Lys His Gly Val Arg Tyr Ala 435 440 445	1344			
20	tac tat ccg tac atc tgg cag aac ttg cat tct acc gtg agt tac atg Tyr Tyr Pro Tyr Ile Trp Gln Asn Leu His Ser Thr Val Ser Tyr Met 450 455 460	1392			
25	cat ggg acg gga acg gga gct aga tgg gag ctt cag ccg ttg tct gga His Gly Thr Gly Thr Gly Ala Arg Trp Glu Leu Gln Pro Leu Ser Gly 465 470 475 480	1440			
30	agg gcg tag Arg Ala	1449			
35	<210> 102				
40	<211> 482				
45	<212> PRT				
50	<213> Thalassiosira pseudonana				
55	<400> 102				
60	Met Pro Pro Asn Ala Glu Val Lys Asn Leu Arg Ser Arg Ser Ile Pro 1 5 10 15				
65	Thr Lys Lys Ser Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ala Asn Asp Asp Pro Ala 20 25 30				
70	Thr Gln Ser Thr Ser Pro Val Asn Arg Thr Leu Lys Ser Leu Asn Gly 35 40 45				
75	Asn Glu Ile Ala Ile Asp Gly Val Ile Tyr Asp Ile Asp Gly Phe Val 50 55 60				
80	His Pro Gly Gly Glu Val Ile Ser Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr 65 70 75 80				
85	Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His Asn Ser Lys His Leu Glu 85 90 95				
90	Lys Met Arg Ala Val Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Ser Thr Glu Tyr Lys 100 105 110				
95	Phe Asp Thr Pro Phe Glu Arg Glu Ile Lys Ser Glu Val Phe Lys Ile 115 120 125				
100	Val Arg Arg Gly Arg Glu Phe Gly Thr Thr Gly Tyr Phe Leu Arg Ala 130 135 140				

161

5 Phe Phe Tyr Ile Ala Leu Phe Phe Thr Met Gln Tyr Thr Phe Ala Thr
 145 150 155 160
 Cys Thr Thr Phe Thr Thr Tyr Asp His Trp Tyr Gln Ser Gly Val Phe
 165 170 175
 10 Ile Ala Ile Val Phe Gly Ile Ser Gln Ala Phe Ile Gly Leu Asn Val
 180 185 190
 15 Gln His Asp Ala Asn His Gly Ala Ala Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn
 195 200 205
 20 Asp Leu Leu Gly Ser Gly Ala Asp Leu Ile Gly Gly Cys Lys Trp Asn
 210 215 220
 25 Trp Leu Ala Gln His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Asp
 225 230 235 240
 Lys Asp Pro Asp Ser Phe Ser Ser Glu Pro Val Phe Asn Phe Asn Asp
 245 250 255
 30 Tyr Pro Ile Gly His Pro Lys Arg Lys Trp Trp His Arg Phe Gln Gly
 260 265 270
 35 Leu Tyr Phe Leu Ile Met Leu Ser Phe Tyr Trp Val Ser Met Val Phe
 275 280 285
 40 Asn Pro Gln Val Ile Asp Leu Arg His Ala Gly Ala Ala Tyr Val Gly
 290 295 300
 45 Phe Gln Met Glu Asn Asp Phe Ile Val Lys Arg Arg Lys Tyr Ala Met
 305 310 315 320
 Ala Leu Arg Ala Met Tyr Phe Tyr Phe Asn Ile Tyr Cys Pro Ile Val
 325 330 335
 50 Asn Asn Gly Leu Thr Trp Ser Thr Val Gly Ile Ile Leu Leu Met Gly
 340 345 350
 55 Val Ser Glu Ser Phe Met Leu Ser Gly Leu Phe Val Leu Ser His Asn
 355 360 365
 60 Phe Glu Asn Ser Glu Arg Asp Pro Thr Ser Glu Tyr Arg Lys Thr Gly
 370 375 380
 65 Glu Gln Val Cys Trp Phe Lys Ser Gln Val Glu Thr Ser Ser Thr Tyr
 385 390 395 400
 Gly Gly Ile Val Ala Gly Cys Leu Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val
 405 410 415
 70 Glu His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Phe Ile
 420 425 430

162

Ala Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Lys Lys His Gly Val Arg Tyr Ala
 435 440 445

5 Tyr Tyr Pro Tyr Ile Trp Gln Asn Leu His Ser Thr Val Ser Tyr Met
 450 455 460

10 His Gly Thr Gly Thr Gly Ala Arg Trp Glu Leu Gln Pro Leu Ser Gly
 465 470 475 480

15 Arg Ala

<210> 103

20 <211> 1512

<212> DNA

25 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

30 <221> CDS

<222> (1)..(1512)

35 <223> Delta-4-Desaturase

<400> 103

40 atg tgc aac ggc aac ctc cca gca tcc acc gca cag ctc aag tcc acc 48
 Met Cys Asn Gly Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Gln Leu Lys Ser Thr
 1 5 10 15 -

45 tcg aag ccc cag cag caa cat gag cat cgc acc atc tcc aag tcc gag 96
 Ser Lys Pro Gln Gln Gln His Glu His Arg Thr Ile Ser Lys Ser Glu
 20 25 30

50 ctc gcc caa cac aac acg ccc aaa tca gca tgg tgt gcc gtc cac tcc 144
 Leu Ala Gln His Asn Thr Pro Lys Ser Ala Trp Cys Ala Val His Ser
 35 40 45

act ccc gcc acc gac cca tcc cac tcc aac aac aaa caa cac gca cac 192
 Thr Pro Ala Thr Asp Pro Ser His Ser Asn Asn Lys Gln His Ala His
 50 55 60

55 cta gtc ctc gac att acc gac ttt gcg tcc cgc cat cca ggg gga gac 240
 Leu Val Leu Asp Ile Thr Asp Phe Ala Ser Arg His Pro Gly Gly Asp
 65 70 75 80

60 ctc atc ctc ctc gct tcc ggc aaa gac gcc tcg gtg ctg ttt gaa aca 288
 Leu Ile Leu Leu Ala Ser Gly Lys Asp Ala Ser Val Leu Phe Glu Thr
 85 90 95

65 tac cat cca cgt gga gtt ccg acg tct ctc att caa aag ctg cag att 336
 Tyr His Pro Arg Gly Val Pro Thr Ser Leu Ile Gln Lys Leu Gln Ile
 100 105 110

gga gtg atg gag gag gag gcg ttt .cgg gat tcg ttt tac agt tgg act 384
 Gly Val Met Glu Glu Glu Ala Phe Arg Asp Ser Phe Tyr Ser Trp Thr
 115 120 125

70 gat tct gac ttt tat act gtg ttg aag agg agg gtt gtg gag cgg ttg 432
 Asp Ser Asp Phe Tyr Thr Val Leu Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Leu
 130 135 140

163

5	gag gag agg ggg ttg gac agg agg gga tcg aaa gag att tgg atc aag Glu Glu Arg Gly Leu Asp Arg Arg Gly Ser Lys Glu Ile Trp Ile Lys 145 150 155 160	480
10	gct ttg ttc ttg ttg gtt gga ttt tgg tac tgt ttg tac aag atg tat Ala Leu Phe Leu Leu Val Gly Phe Trp Tyr Cys Leu Tyr Lys Met Tyr 165 170 175	528
15	act acg tcg gat atc gat cag tac ggt att gcc att gcc tat tct att Thr Thr Ser Asp Ile Asp Gln Tyr Gly Ile Ala Ile Ala Tyr Ser Ile 180 185 190	576
20	gga atg gga acc ttt gcg gca ttc atc ggc acg tgt att caa cac gat Gly Met Gly Thr Phe Ala Ala Phe Ile Gly Thr Cys Ile Gln His Asp 195 200 205	624
25	gga aat cac ggt gca ttc gct cag aac aag tta ctc aac aag ttg gct Gly Asn His Gly Ala Phe Ala Gln Asn Lys Leu Leu Asn Lys Leu Ala 210 215 220	672
30	ggg tgg acg ttg gat atg att ggt gcg agt gcg ttt acg tgg gag ctt Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Phe Thr Trp Glu Leu 225 230 235 240	720
35	cag cac atg ctg ggg cat cat cca tat acg aat gtg ttg gat ggg gtg Gln His Met Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Val Leu Asp Gly Val 245 250 255	768
40	gag gag gag agg aag gag agg ggg gag gat gtt gct ttg gaa gaa aag Glu Glu Glu Arg Lys Glu Arg Gly Glu Asp Val Ala Leu Glu Glu Lys 260 265 270	816
45	gat cag gat ttt gaa gtt gcc aca tcc gga cga tta tat cat att gat Asp Gln Asp Phe Glu Val Ala Thr Ser Gly Arg Leu Tyr His Ile Asp 275 280 285	864
50	gcc aat gta cgt tat ggt tcg gta tgg aat gtc atg agg ttt tgg gct Ala Asn Val Arg Tyr Gly Ser Val Trp Asn Val Met Arg Phe Trp Ala 290 295 300	912
55	atg aag gtc att acg atg gga tat atg atg gga tta cca atc tac ttt Met Lys Val Ile Thr Met Gly Tyr Met Met Gly Leu Pro Ile Tyr Phe 305 310 315 320	960
60	cat gga gta ctg agg gga gtt gga ttg ttt gtt att ggg cat ttg gcg His Gly Val Leu Arg Gly Val Gly Leu Phe Val Ile Gly His Leu Ala 325 330 335	1008
65	tgt gga gag ttg ttg gcg acg atg ttt att gtg aat cac gtc att gag Cys Gly Glu Leu Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His Val Ile Glu 340 345 350	1056
70	ggt gtg agt tat gga acg aag gat ttg gtt ggt ggt gcg agt cat gta Gly Val Ser Tyr Gly Thr Lys Asp Leu Val Gly Gly Ala Ser His Val 355 360 365	1104
75	gat gag aag aag att gtc aag cca acg act gta ttg gga gat aca cca Asp Glu Lys Lys Ile Val Lys Pro Thr Thr Val Leu Gly Asp Thr Pro 370 375 380	1152
80	atg gta aag act cgc gag gag gca ttg aaa agc aac agc aat aac aac Met Val Lys Thr Arg Glu Glu Ala Leu Lys Ser Asn Ser Asn Asn Asn 385 390 395 400	1200
85	aag aag aag gga gag aag aac tcg gta cca tcc gtt cca ttc aac gac Lys Lys Lys Gly Glu Lys Asn Ser Val Pro Ser Val Pro Phe Asn Asp 405 410 415	1248
90	tgg gca gca gtc caa tgc cag acc tcc gtg aat tgg tct cca ggc tca Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr Ser Val Asn Trp Ser Pro Gly Ser 420 425 430	1296

164

tgg ttc tgg aat cac ttt tct ggg gga ctc tct cat cag att gag cat 1344
 Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly Gly Leu Ser His Gln Ile Glu His
 435 440 445

5 cac ttg ttc ccc agc att tgt cat aca aac tac tgt cat atc cag gat 1392
 His Leu Phe Pro Ser Ile Cys His Thr Asn Tyr Cys His Ile Gln Asp
 450 455 460

10 gtt gtg gag agt acg tgt gct gag tac gga gtt ccg tat cag agt gag 1440
 Val Val Glu Ser Thr Cys Ala Glu Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ser Glu
 465 470 475 480

15 agt aat ttg ttt gtt gct tat gga aag atg att agt cat ttg aag ttt 1488
 Ser Asn Leu Phe Val Ala Tyr Gly Lys Met Ile Ser His Leu Lys Phe
 485 490 495

20 ttg ggt aaa gcc aag tgt gag tag 1512
 Leu Gly Lys Ala Lys Cys Glu
 500

<210> 104

25 <211> 503

<212> PRT

<213> *Thalassiosira pseudonana*

30 <400> 104

35 Met Cys Asn Gly Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Gln Leu Lys Ser Thr
 1 5 10 15

40 Ser Lys Pro Gln Gln Gln His Glu His Arg Thr Ile Ser Lys Ser Glu
 20 25 30

Leu Ala Gln His Asn Thr Pro Lys Ser Ala Trp Cys Ala Val His Ser
 35 40 45

45 Thr Pro Ala Thr Asp Pro Ser His Ser Asn Asn Lys Gln His Ala His
 50 55 60

50 Leu Val Leu Asp Ile Thr Asp Phe Ala Ser Arg His Pro Gly Gly Asp
 65 70 75 80

55 Leu Ile Leu Leu Ala Ser Gly Lys Asp Ala Ser Val Leu Phe Glu Thr
 85 90 95

60 Tyr His Pro Arg Gly Val Pro Thr Ser Leu Ile Gln Lys Leu Gln Ile
 100 105 110

Gly Val Met Glu Glu Glu Ala Phe Arg Asp Ser Phe Tyr Ser Trp Thr
 115 120 125

65 Asp Ser Asp Phe Tyr Thr Val Leu Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Leu
 130 135 140

70 Glu Glu Arg Gly Leu Asp Arg Arg Gly Ser Lys Glu Ile Trp Ile Lys
 145 150 155 160

165

	Ala	Leu	Phe	Leu	Leu	Val	Gly	Phe	Trp	Tyr	Cys	Leu	Tyr	Lys	Met	Tyr
				165						170					175	
5	Thr	Thr	Ser	Asp	Ile	Asp	Gln	Tyr	Gly	Ile	Ala	Ile	Ala	Tyr	Ser	Ile
				180					185					190		
10	Gly	Met	Gly	Thr	Phe	Ala	Ala	Phe	Ile	Gly	Thr	Cys	Ile	Gln	His	Asp
			195					200					205			
15	Gly	Asn	His	Gly	Ala	Phe	Ala	Gln	Asn	Lys	Leu	Leu	Asn	Lys	Leu	Ala
		210					215					220				
20	Gly	Trp	Thr	Leu	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ser	Ala	Phe	Thr	Trp	Glu	Leu
	225					230					235				240	
25	Gln	His	Met	Leu	Gly	His	His	Pro	Tyr	Thr	Asn	Val	Leu	Asp	Gly	Val
					245					250					255	
30	Glu	Glu	Glu	Arg	Lys	Glu	Arg	Gly	Glu	Asp	Val	Ala	Leu	Glu	Glu	Lys
				260					265					270		
35	Asp	Gln	Asp	Phe	Glu	Val	Ala	Thr	Ser	Gly	Arg	Leu	Tyr	His	Ile	Asp
			275					280					285			
40	Ala	Asn	Val	Arg	Tyr	Gly	Ser	Val	Trp	Asn	Val	Met	Arg	Phe	Trp	Ala
		290					295					300				
45	Met	Lys	Val	Ile	Thr	Met	Gly	Tyr	Met	Met	Gly	Leu	Pro	Ile	Tyr	Phe
	305					310					315					320
50	His	Gly	Val	Leu	Arg	Gly	Val	Gly	Leu	Phe	Val	Ile	Gly	His	Leu	Ala
					325					330					335	
55	Cys	Gly	Glu	Leu	Leu	Ala	Thr	Met	Phe	Ile	Val	Asn	His	Val	Ile	Glu
				340					345					350		
60	Gly	Val	Ser	Tyr	Gly	Thr	Lys	Asp	Leu	Val	Gly	Gly	Ala	Ser	His	Val
			355					360					365			
65	Asp	Glu	Lys	Lys	Ile	Val	Lys	Pro	Thr	Thr	Val	Leu	Gly	Asp	Thr	Pro
		370					375					380				
70	Met	Val	Lys	Thr	Arg	Glu	Glu	Ala	Leu	Lys	Ser	Asn	Ser	Asn	Asn	Asn
	385					390					395					400
75	Lys	Lys	Lys	Gly	Glu	Lys	Asn	Ser	Val	Pro	Ser	Val	Pro	Phe	Asn	Asp
				405						410					415	
80	Trp	Ala	Ala	Val	Gln	Cys	Gln	Thr	Ser	Val	Asn	Trp	Ser	Pro	Gly	Ser
				420					425					430		
85	Trp	Phe	Trp	Asn	His	Phe	Ser	Gly	Gly	Leu	Ser	His	Gln	Ile	Glu	His
			435					440					445			
90	His	Leu	Phe	Pro	Ser	Ile	Cys	His	Thr	Asn	Tyr	Cys	His	Ile	Gln	Asp

166

	450		455		460	
5	Val Val Glu Ser Thr Cys Ala Glu Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ser Glu					
	465		470		475	480
10	Ser Asn Leu Phe Val Ala Tyr Gly Lys Met Ile Ser His Leu Lys Phe					
			485		490	495
	Leu Gly Lys Ala Lys Cys Glu					
			500			
15	<210> 105					
	<211> 1257					
20	<212> DNA					
	<213> <i>Thalassiosira pseudonana</i>					
25	<220>					
	<221> CDS					
30	<222> (1)..(1257)					
	<223> Omega-3-Desaturase					
35	<400> 105					
	atg tac aga tta aca tcc acc ttc ctc atc gca ttg gca ttc tcc tcc					48
	Met Tyr Arg Leu Thr Ser Thr Phe Leu Ile Ala Leu Ala Phe Ser Ser					
	1 5 10 15					
40	tcc atc aat gcc ttc tct cca caa cgg cca cca cgt act atc acc aaa					96
	Ser Ile Asn Ala Phe Ser Pro Gln Arg Pro Pro Arg Thr Ile Thr Lys					
	20 25 30					
45	agt aaa gtc caa agc acc gtg cta ccc ata ccg acc aag gat gat ctg					144
	Ser Lys Val Gln Ser Thr Val Leu Pro Ile Pro Thr Lys Asp Asp Leu					
	35 40 45					
50	aac ttt ctc caa cca caa ctc gat gag aat gat ctc tac ctc gac gat					192
	Asn Phe Leu Gln Pro Gln Leu Asp Glu Asn Asp Leu Tyr Leu Asp Asp					
	50 55 60					
55	gtc aac act cca cca aga gca ggt acc atc atg aag atg ttg ccg aag					240
	Val Asn Thr Pro Pro Arg Ala Gly Thr Ile Met Lys Met Leu Pro Lys					
	65 70 75 80					
60	gaa acg ttc aac att gat aca gca act tca ttg ggt tac ttt ggt atg					288
	Glu Thr Phe Asn Ile Asp Thr Ala Thr Ser Leu Gly Tyr Phe Gly Met					
	85 90 95					
65	gat atg gca gcg gtt gta tcg tcc atg acg ttg cta aat gct att gta					336
	Asp Met Ala Ala Val Val Ser Ser Met Thr Leu Leu Asn Ala Ile Val					
	100 105 110					
70	act tcg gat cag tac cat gct ctt cca ctt cct ctc caa gca gca aca					384
	Thr Ser Asp Gln Tyr His Ala Leu Pro Leu Pro Leu Gln Ala Ala Thr					
	115 120 125					
75	gtg att ccc ttt cag cta ttg gct ggg ttc gcc atg tgg tgt atg tgg					432
	Val Ile Pro Phe Gln Leu Leu Ala Gly Phe Ala Met Trp Cys Met Trp					
	130 135 140					
	tgc att gga cac gat gct gga cat tct act gtt tcg aag aca aag tgg					480

167

[illegible]

168

<210> 106

<211> 418

5 <212> PRT

<213> *Thalassiosira pseudonana*

10 <400> 106

Met Tyr Arg Leu Thr Ser Thr Phe Leu Ile Ala Leu Ala Phe Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Ile Asn Ala Phe Ser Pro Gln Arg Pro Pro Arg Thr Ile Thr Lys
 20 25 30

Ser Lys Val Gln Ser Thr Val Leu Pro Ile Pro Thr Lys Asp Asp Leu
 35 40 45

Asn Phe Leu Gln Pro Gln Leu Asp Glu Asn Asp Leu Tyr Leu Asp Asp
 50 55 60

Val Asn Thr Pro Pro Arg Ala Gly Thr Ile Met Lys Met Leu Pro Lys
 65 70 75 80

Glu Thr Phe Asn Ile Asp Thr Ala Thr Ser Leu Gly Tyr Phe Gly Met
 85 90 95

Asp Met Ala Ala Val Val Ser Ser Met Thr Leu Leu Asn Ala Ile Val
 100 105 110

Thr Ser Asp Gln Tyr His Ala Leu Pro Leu Pro Leu Gln Ala Ala Thr
 115 120 125

Val Ile Pro Phe Gln Leu Leu Ala Gly Phe Ala Met Trp Cys Met Trp
 130 135 140

Cys Ile Gly His Asp Ala Gly His Ser Thr Val Ser Lys Thr Lys Trp
 145 150 155 160

Ile Asn Arg Val Val Gly Glu Val Ala His Ser Val Val Cys Leu Thr
 165 170 175

Pro Phe Val Pro Trp Gln Met Ser His Arg Lys His His Leu Asn His
 180 185 190

Asn His Ile Glu Lys Asp Tyr Ser His Lys Trp Tyr Ser Arg Asp Glu
 195 200 205

Phe Asp Asp Ile Pro Gln Leu Tyr Lys Thr Phe Gly Tyr Asn Pro Arg
 210 215 220

Met Met Gln Leu Pro Phe Leu Tyr Phe Met Tyr Leu Ala Leu Gly Ile
 225 230 235 240

Pro Asp Gly Gly His Val Val Phe Tyr Gly Arg Met Trp Glu Gly Val

169

245

250

255

5 Ser Leu Gln Lys Lys Phe Asp Ala Ala Ile Ser Val Ala Val Ser Cys
 260 265 270

10 Ala Thr Ala Gly Ser Leu Trp Met Asn Met Gly Thr Ala Asp Phe Thr
 275 280 285

15 Val Val Cys Met Val Pro Trp Leu Val Leu Ser Trp Trp Leu Phe Met
 290 295 300

20 Val Thr Tyr Leu Gln His His Ser Glu Asp Gly Lys Leu Tyr Thr Asp
 305 310 315 320

25 Glu Thr Phe Thr Phe Glu Lys Gly Ala Phe Glu Thr Val Asp Arg Ser
 325 330 335

30 Tyr Gly Lys Leu Ile Asn Arg Met Ser His His Met Met Asp Gly His
 340 345 350

Val Val His His Leu Phe Phe Glu Arg Val Pro His Tyr Arg Leu Glu
 355 360 365

35 Ala Ala Thr Glu Ala Leu Val Lys Gly Met Asp Glu Thr Gly Gln Lys
 370 375 380

His Leu Tyr Lys Tyr Ile Asp Thr Pro Asp Phe Asn Ala Glu Ile Val
 385 390 395 400

40 Asn Gly Phe Arg Asp Asn Trp Phe Leu Val Glu Glu Glu Asn Ile Lys
 405 410 415

45 Arg Glu

50 <210> 107
 <211> 1086
 <212> DNA
 <213> *Ostreococcus tauri*

55 <220>

60 <221> CDS
 <222> (1)..(1086)
 <223> Delta-12-Desaturase

65 <400> 107
 70 atg cag gag ggg gtg cga aac att ccg aac gag tgc ttt gag acg gga 48
 Met Gln Glu Gly Val Arg Asn Ile Pro Asn Glu Cys Phe Glu Thr Gly
 1 5 10 15
 cat ctt gaa aga ccc tgg cgt tcc ggc cgg tgt ggg cgc gat ccc ggt 96

170

	His	Leu	Glu	Arg	Pro	Trp	Arg	Ser	Gly	Arg	Cys	Gly	Arg	Asp	Pro	Gly	
				20					25					30			
5	tcg	aat	tgg	ggc	gct	ggc	ttc	cgc	ttt	ttt	tcg	ctc	aag	ggg	ttt	tgg	144
	Ser	Asn	Trp	Gly	Ala	Gly	Phe	Arg	Phe	Phe	Ser	Leu	Lys	Gly	Phe	Trp	
			35					40					45				
10	tgg	ccg	gcg	tgg	tgg	gcg	tac	gcg	ttc	gtg	acg	ggg	acg	gcg	gcc	act	192
	Trp	Pro	Ala	Trp	Trp	Ala	Tyr	Ala	Phe	Val	Thr	Gly	Thr	Ala	Ala	Thr	
			50				55					60					
15	ggg	tgt	tgg	gtc	gcc	gcg	cac	gag	tgc	ggg	cac	ggc	gcg	ttc	agc	gat	240
	Gly	Cys	Trp	Val	Ala	Ala	His	Glu	Cys	Gly	His	Gly	Ala	Phe	Ser	Asp	
	65					70					75				80		
20	aac	aag	acg	ttg	caa	gat	gcg	gtt	gga	tac	gtg	ttg	cac	tcg	ttg	ctc	288
	Asn	Lys	Thr	Leu	Gln	Asp	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Leu	His	Ser	Leu	Leu	
					85					90					95		
25	agg	acg	aat	cac	gtt	ctt	gag	ggc	gag	acg	cac	gtg	ccg	gcg	cgc	ttg	384
	Arg	Thr	Asn	His	Val	Leu	Glu	Gly	Glu	Thr	His	Val	Pro	Ala	Arg	Leu	
			115					120					125				
30	ggg	acg	gaa	gac	gcc	aac	gtc	gtg	ttc	aag	ctt	cgc	gaa	ttg	atc	ggc	432
	Gly	Thr	Glu	Asp	Ala	Asn	Val	Phe	Lys	Leu	Arg	Glu	Glu	Leu	Ile	Gly	
			130				135					140					
35	gaa	ggg	ccg	ttc	acg	ttt	ttc	aac	ctc	gtc	ggc	gtc	ttc	gcg	ctc	gga	480
	Glu	Gly	Pro	Phe	Thr	Phe	Phe	Asn	Leu	Val	Gly	Val	Phe	Ala	Leu	Gly	
	145					150					155					160	
40	tgg	ccg	att	tac	ttg	ctc	acc	ggc	gcg	agc	ggc	gga	ccg	gtg	cgc	ggc	528
	Trp	Pro	Ile	Tyr	Leu	Leu	Thr	Gly	Ala	Ser	Gly	Gly	Pro	Val	Arg	Gly	
					165					170					175		
45	aac	acg	aac	cac	ttc	tta	ccc	ttc	atg	ggc	gag	aaa	ggc	aag	cac	gcg	576
	Asn	Thr	Asn	His	Phe	Leu	Pro	Phe	Met	Gly	Glu	Lys	Gly	Lys	His	Ala	
				180					185					190			
50	ctg	ttc	ccg	ggc	aag	tgg	gcg	aag	aag	gtg	tgg	cag	tct	gac	atc	ggc	624
	Leu	Phe	Pro	Gly	Lys	Trp	Ala	Lys	Lys	Val	Trp	Gln	Ser	Asp	Ile	Gly	
			195					200					205				
55	gtt	gtt	gcc	gtc	ctg	ggc	gcg	ctc	gcg	gct	tgg	gcg	gcg	cac	agc	ggg	672
	Val	Val	Ala	Val	Leu	Gly	Ala	Leu	Ala	Ala	Trp	Ala	Ala	His	Ser	Gly	
			210				215					220					
60	att	gcc	aca	gtg	atg	gca	ctc	tac	gtc	ggc	ccg	tac	atg	gtg	acc	aac	720
	Ile	Ala	Thr	Val	Met	Ala	Leu	Tyr	Val	Gly	Pro	Tyr	Met	Val	Thr	Asn	
			225			230					235					240	
65	ttt	tgg	ctc	gtc	ttg	tac	acg	tgg	tta	cag	cac	acc	gac	gtt	gac	gtg	768
	Phe	Trp	Leu	Val	Leu	Tyr	Thr	Trp	Leu	His	Thr	Asp	Val	Asp	Val		
					245					250					255		
70	ccg	cac	ttc	gag	ggc	gac	gat	tgg	aac	ttg	gtc	aag	ggg	gca	ttc	atg	816
	Pro	His	Phe	Glu	Gly	Asp	Asp	Trp	Asn	Leu	Val	Lys	Gly	Ala	Phe	Met	
				260					265					270			
75	acg	atc	gat	cgc	ccg	tac	ggc	cca	gtt	ttt	gat	ttc	ttg	cac	cac	cgc	864
	Thr	Ile	Asp	Arg	Pro	Tyr	Gly	Pro	Val	Phe	Asp	Phe	Leu	His	His	Arg	
			275					280					285				
80	atc	ggc	agc	acg	cac	gtc	gcg	cac	cac	atc	aac	aca	cca	ttc	ccg	cat	912
	Ile	Gly	Ser	Thr	His	Val	Ala	His	His	Ile	Asn	Thr	Pro	Phe	Pro	His	
			290				295					300					
85	tac	aag	gct	caa	atg	gcg	acg	gat	gcg	cta	aag	gag	gcg	tat	ccc	gac	960
	Tyr	Lys	Ala	Gln	Met	Ala	Thr	Asp	Ala	Leu	Lys	Glu	Ala	Tyr	Pro	Asp	

171

	305		310		315		320	
5	ctc tac ctt tac gat cca act ccg atc gcg acc gct acg tgg cgc gtg							1008
	Leu Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Ala Thr Ala Thr Trp Arg Val							
			325			330		335
10	ggg agc aag tgc atc gcc gtc gtg aag aag gga gac gaa tgg gtg ttc							1056
	Gly Ser Lys Cys Ile Ala Val Val Lys Lys Gly Asp Glu Trp Val Phe							
			340			345		350
15	acg gat aag caa ctc ccg gtc gcg gcg tga							1086
	Thr Asp Lys Gln Leu Pro Val Ala Ala							
			355			360		
20	<210> 108							
	<211> 361							
25	<212> PRT							
	<213> <i>Ostreococcus tauri</i>							
30	<400> 108							
	Met Gln Glu Gly Val Arg Asn Ile Pro Asn Glu Cys Phe Glu Thr Gly							
	1 5 10 15							
35	His Leu Glu Arg Pro Trp Arg Ser Gly Arg Cys Gly Arg Asp Pro Gly							
			20			25		30
40	Ser Asn Trp Gly Ala Gly Phe Arg Phe Phe Ser Leu Lys Gly Phe Trp							
			35			40		45
45	Trp Pro Ala Trp Trp Ala Tyr Ala Phe Val Thr Gly Thr Ala Ala Thr							
			50			55		60
50	Gly Cys Trp Val Ala Ala His Glu Cys Gly His Gly Ala Phe Ser Asp							
			65			70		75
55	Asn Lys Thr Leu Gln Asp Ala Val Gly Tyr Val Leu His Ser Leu Leu							
			85			90		95
60	Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Gln Arg Ser His Ala Val His His Ser							
			100			105		110
65	Arg Thr Asn His Val Leu Glu Gly Glu Thr His Val Pro Ala Arg Leu							
			115			120		125
70	Gly Thr Glu Asp Ala Asn Val Val Phe Lys Leu Arg Glu Leu Ile Gly							
			130			135		140
75	Glu Gly Pro Phe Thr Phe Phe Asn Leu Val Gly Val Phe Ala Leu Gly							
			145			150		155
80	Trp Pro Ile Tyr Leu Leu Thr Gly Ala Ser Gly Gly Pro Val Arg Gly							
			165			170		175
85	Asn Thr Asn His Phe Leu Pro Phe Met Gly Glu Lys Gly Lys His Ala							
			180			185		190

172

5 Leu Phe Pro Gly Lys Trp Ala Lys Lys Val Trp Gln Ser Asp Ile Gly
 195 200 205
 Val Val Ala Val Leu Gly Ala Leu Ala Ala Trp Ala Ala His Ser Gly
 210 215 220
 10 Ile Ala Thr Val Met Ala Leu Tyr Val Gly Pro Tyr Met Val Thr Asn
 225 230 235 240
 15 Phe Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Thr Asp Val Asp Val
 245 250 255
 20 Pro His Phe Glu Gly Asp Asp Trp Asn Leu Val Lys Gly Ala Phe Met
 260 265 270
 25 Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Pro Val Phe Asp Phe Leu His His Arg
 275 280 285
 Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Ile Asn Thr Pro Phe Pro His
 290 295 300
 30 Tyr Lys Ala Gln Met Ala Thr Asp Ala Leu Lys Glu Ala Tyr Pro Asp
 305 310 315 320
 35 Leu Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Ala Thr Ala Thr Trp Arg Val
 325 330 335
 40 Gly Ser Lys Cys Ile Ala Val Val Lys Lys Gly Asp Glu Trp Val Phe
 340 345 350
 45 Thr Asp Lys Gln Leu Pro Val Ala Ala
 355 360
 <210> 109
 <211> 1305
 <212> DNA
 <213> *Thalassiosira pseudonana*
 55
 <220>
 <221> CDS
 60 <222> (1)..(1305)
 <223> Delta-12-Desaturase
 65
 <400> 109
 atg gga aag gga gga aga tca gta acc cgc gct caa acà gca gaa aag 48
 Met Gly Lys Gly Gly Arg Ser Val Thr Arg Ala Gln Thr Ala Glu Lys
 1 5 10 15
 tca gca cac acc atc caa acc ttc acc gac ggc cga tgg gtc tcc ccc 96
 Ser Ala His Thr Ile Gln Thr Phe Thr Asp Gly Arg Trp Val Ser Pro

173

	20	25	30	
5	tac aac ccc ctc gca aaa gat gca cct gaa ctc ccc tcc aag ggt gaa Tyr Asn Pro Leu Ala Lys Asp Ala Pro Glu Leu Pro Ser Lys Gly Glu 35 40 45	144		
10	atc aag gcg gtc atc ccc aaa gag tgc ttc gaa cga agc tac ctc cac Ile Lys Ala Val Ile Pro Lys Glu Cys Phe Glu Arg Ser Tyr Leu His 50 55 60	192		
15	tcc atg tac ttc gtc ctc cgt gac acc gtc atg gcc gtg gcc tgc gcc Ser Met Tyr Phe Val Leu Arg Asp Thr Val Met Ala Val Ala Cys Ala 65 70 75 80	240		
20	tac atc gcc cac tca acg ctc tcc acc gat att ccc tcc gag tta ctg Tyr Ile Ala His Ser Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Ser Glu Leu Leu 85 90 95	288		
25	agc gtg gac gca ctc aaa tgg ttc ctc gga tgg aac acc tac gcc ttt Ser Val Asp Ala Leu Lys Trp Phe Leu Gly Trp Asn Thr Tyr Ala Phe 100 105 110	336		
30	tgg atg ggg tgc att ctc acc gga cac tgg gtc cta gcc cat gaa tgt Trp Met Gly Cys Ile Leu Thr Gly His Trp Val Leu Ala His Glu Cys 115 120 125	384		
35	gga cat ggt gca ttc tct ccc tct cag acg ttt aat gac ttt tgg ggg Gly His Gly Ala Phe Ser Pro Ser Gln Thr Phe Asn Asp Phe Trp Gly 130 135 140	432		
40	ttc att atg cat cag gcg gtg ttg gtt ccg tat ttc gcc tgg cag tac Phe Ile Met His Gln Ala Val Leu Val Pro Tyr Phe Ala Trp Gln Tyr 145 150 155 160	480		
45	tct cat gcg aag cat cat cga cgt acc aac aac att atg gat ggg gag Ser His Ala Lys His His Arg Arg Thr Asn Asn Ile Met Asp Gly Glu 165 170 175	528		
50	agc cat gtg ccc aat atc gcc aag gaa atg gga ttg aac gag aag aat Ser His Val Pro Asn Ile Ala Lys Glu Met Gly Leu Asn Glu Lys Asn 180 185 190	576		
55	gag cgc agt gga gga tat gcc gcc att cat gag gct att gga gat gga Glu Arg Ser Gly Gly Tyr Ala Ala Ile His Glu Ala Ile Gly Asp Gly 195 200 205	624		
60	ccc ttt gcg atg ttt caa atc ttt gct cac ttg gtg atc ggg tgg cct Pro Phe Ala Met Phe Gln Ile Phe Ala His Leu Val Ile Gly Trp Pro 210 215 220	672		
65	att tac ttg atg gga ttt gct tcc act gga cgt ctc ggt cag gat ggg Ile Tyr Leu Met Gly Phe Ala Ser Thr Gly Arg Leu Gly Gln Asp Gly 225 230 235 240	720		
70	aag gaa ctt cag gct gga gag atc atc gac cat tac cgt cct tgg agt Lys Glu Leu Gln Ala Gly Glu Ile Ile Asp His Tyr Arg Pro Trp Ser 245 250 255	768		
75	aag atg ttc ccc acc aag ttg cga ttc aaa att gct ctt tcg aca ctt Lys Met Phe Pro Thr Lys Leu Arg Phe Lys Ile Ala Leu Ser Thr Leu 260 265 270	816		
80	gga gtg att gcc gcc tgg gtt ggg ttg tac ttt gct gca caa gag tat Gly Val Ile Ala Ala Trp Val Gly Leu Tyr Phe Ala Ala Gln Glu Tyr 275 280 285	864		
85	gga gtc ttg ccc gtg gtt ctt tgg tac att ggc cca ctc atg tgg aat Gly Val Leu Pro Val Val Leu Trp Tyr Ile Gly Pro Leu Met Trp Asn 290 295 300	912		
90	cag gcg tgg ctt gtg ctc tac act tgg ctt cag cac aat gat ccc tcc Gln Ala Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Asn Asp Pro Ser 305 310 315 320	960		

174

5	gtg cct caa tat gga agt gac gaa tgg aca tgg gtc aag gga gct ttg Val Pro Gln Tyr Gly Ser Asp Glu Trp Thr Trp Val Lys Gly Ala Leu 325 330 335	1008
10	tgc acg att gat cgc ccg tat ggt atc ttt gac ttc ttc cat cac aag Ser Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Ile Phe Asp Phe Phe His His Lys 340 345 350	1056
15	att gga agc act cac gta gct cat cat ttg ttc cac gag atg cca ttt Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Leu Phe His Glu Met Pro Phe 355 360 365	1104
20	tac aag gcg gat gtg gct act gcg tgc atc aag ggt ttc ttg gag ccg Tyr Lys Ala Asp Val Ala Thr Ala Ser Ile Lys Gly Phe Leu Glu Pro 370 375 380	1152
25	aag gga ctt tac aac tat gat cca acg cct tgg tat gtg gcc atg tgg Lys Gly Leu Tyr Asn Tyr Asp Pro Thr Pro Trp Tyr Val Ala Met Trp 385 390 395 400	1200
30	agg gtg gcc aag act tgt cat tat att gag gat gtg gat gga gtt cag Arg Val Ala Lys Thr Cys His Tyr Ile Glu Asp Val Asp Gly Val Gln 405 410 415	1248
35	tat tat aag agt ttg gag gat gtg cct ttg aag aag gat gcc aag aag Tyr Tyr Lys Ser Leu Glu Asp Val Pro Leu Lys Lys Asp Ala Lys Lys 420 425 430	1296
40	tct gat tag Ser Asp	1305
45	<210> 110 <211> 434 <212> PRT <213> <i>Thalassiosira pseudonana</i>	
50	<400> 110 Met Gly Lys Gly Gly Arg Ser Val Thr Arg Ala Gln Thr Ala Glu Lys 1 5 10 15	
55	Ser Ala His Thr Ile Gln Thr Phe Thr Asp Gly Arg Trp Val Ser Pro 20 25 30	
60	Tyr Asn Pro Leu Ala Lys Asp Ala Pro Glu Leu Pro Ser Lys Gly Glu 35 40 45	
65	Ile Lys Ala Val Ile Pro Lys Glu Cys Phe Glu Arg Ser Tyr Leu His 50 55 60	
70	Ser Met Tyr Phe Val Leu Arg Asp Thr Val Met Ala Val Ala Cys Ala 65 70 75 80	
	Tyr Ile Ala His Ser Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Ser Glu Leu Leu 85 90 95	
	Ser Val Asp Ala Leu Lys Trp Phe Leu Gly Trp Asn Thr Tyr Ala Phe 100 105 110	

175

Trp Met Gly Cys Ile Leu Thr Gly His Trp Val Leu Ala His Glu Cys
 115 120 125
 5
 Gly His Gly Ala Phe Ser Pro Ser Gln Thr Phe Asn Asp Phe Trp Gly
 130 135 140
 10
 Phe Ile Met His Gln Ala Val Leu Val Pro Tyr Phe Ala Trp Gln Tyr
 145 150 155 160
 15
 Ser His Ala Lys His His Arg Arg Thr Asn Asn Ile Met Asp Gly Glu
 165 170 175
 20
 Ser His Val Pro Asn Ile Ala Lys Glu Met Gly Leu Asn Glu Lys Asn
 180 185 190
 Glu Arg Ser Gly Gly Tyr Ala Ala Ile His Glu Ala Ile Gly Asp Gly
 195 200 205
 25
 Pro Phe Ala Met Phe Gln Ile Phe Ala His Leu Val Ile Gly Trp Pro
 210 215 220
 30
 Ile Tyr Leu Met Gly Phe Ala Ser Thr Gly Arg Leu Gly Gln Asp Gly
 225 230 235 240
 35
 Lys Glu Leu Gln Ala Gly Glu Ile Ile Asp His Tyr Arg Pro Trp Ser
 245 250 255
 40
 Lys Met Phe Pro Thr Lys Leu Arg Phe Lys Ile Ala Leu Ser Thr Leu
 260 265 270
 45
 Gly Val Ile Ala Ala Trp Val Gly Leu Tyr Phe Ala Ala Gln Glu Tyr
 275 280 285
 50
 Gly Val Leu Pro Val Val Leu Trp Tyr Ile Gly Pro Leu Met Trp Asn
 290 295 300
 55
 Gln Ala Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Asn Asp Pro Ser
 305 310 315 320
 Val Pro Gln Tyr Gly Ser Asp Glu Trp Thr Trp Val Lys Gly Ala Leu
 325 330 335
 60
 Ser Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Ile Phe Asp Phe Phe His His Lys
 340 345 350
 Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Leu Phe His Glu Met Pro Phe
 355 360 365
 65
 Tyr Lys Ala Asp Val Ala Thr Ala Ser Ile Lys Gly Phe Leu Glu Pro
 370 375 380
 70
 Lys Gly Leu Tyr Asn Tyr Asp Pro Thr Pro Trp Tyr Val Ala Met Trp
 385 390 395 400

176

Arg Val Ala Lys Thr Cys His Tyr Ile Glu Asp Val Asp Gly Val Gln
 405 410 415

5 Tyr Tyr Lys Ser Leu Glu Asp Val Pro Leu Lys Lys Asp Ala Lys Lys
 420 425 430

10 Ser Asp

<210> 111

15 <211> 879

<212> DNA

20 <213> *Ostreococcus tauri*

<220>

25 <221> CDS

<222> (1) .. (879)

30 <223> Delta-6-Elongase

<400> 111

35 atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag 48
 Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
 1 5 10 15

40 tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96
 Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
 20 25 30

cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tgc agt acg gcg cat tta ccc gcc 144
 Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
 35 40 45

45 att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc 192
 Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
 50 55 60

50 aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa 240
 Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
 65 70 75 80

55 att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg 288
 Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala
 85 90 95

60 ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa 336
 Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln
 100 105 110

65 gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg 384
 Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr
 115 120 125

gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata 432
 Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile
 130 135 140

70 tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg 480
 Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg
 145 150 155 160

177

	caa gta agt ttc cta cac att tat cac cac agc acg att tcc ttt att	528
	Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile	
	165 170 175	
5	tgg tgg atc att gct cgg agg gct ccg ggt ggt gat gct tac ttc agc	576
	Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser	
	180 185 190	
10	gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta	624
	Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu	
	195 200 205	
15	tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt	672
	Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu	
	210 215 220	
20	tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc	720
	Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe	
	225 230 235 240	
	aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tcg ttc tct acg tat ccc aag	768
	Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys	
	245 250 255	
25	ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg	816
	Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu	
	260 265 270	
30	ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag	864
	Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Lys Leu Gln	
	275 280 285	
35	aaa aaa cag cag tga	879
	Lys Lys Gln Gln	
	290	
	<210> 112	
40	<211> 292	
	<212> PRT	
45	<213> <i>Ostreococcus tauri</i>	
	<400> 112	
50	Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys	
	1 5 10 15	
55	Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe	
	20 25 30	
60	Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala	
	35 40 45	
	Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val	
	50 55 60	
65	Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys	
	65 70 75 80	
70	Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala	
	85 90 95	

178

Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln
100 105 110

5 Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr
115 120 125

10 Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile
130 135 140

15 Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg
145 150 155 160

20 Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile
165 170 175

25 Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
180 185 190

30 Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu
195 200 205

35 Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu
210 215 220

40 Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe
225 230 235 240

45 Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys
245 250 255

50 Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu
260 265 270

55 Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln
275 280 285

60 Lys Lys Gln Gln
290

<210> 113

55 <211> 903

<212> DNA

60 <213> *Ostreococcus tauri*

<220>

65 <221> CDS

<222> (1)..(903)

70 <223> Delta-5-Elongase

<400> 113

179

	atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg ttc gcc gcg tac	48
	Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr	
	1 5 10 15	
5	gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tgc cac gcg aat ggc	96
	Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly	
	20 25 30	
10	atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tgc ttg agg	144
	Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg	
	35 40 45	
15	ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga	192
	Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly	
	50 55 60	
20	ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg	240
	Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met	
	65 70 75 80	
25	ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg	288
	Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly	
	85 90 95	
30	atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca	336
	Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser	
	100 105 110	
35	acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg	384
	Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val	
	115 120 125	
40	tgg ttg cac tac aac aac aaa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc	432
	Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe	
	130 135 140	
45	atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat	480
	Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr	
	145 150 155 160	
50	cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg	528
	His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met	
	165 170 175	
55	gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg	576
	Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser	
	180 185 190	
60	ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc	624
	Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly	
	195 200 205	
65	att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa	672
	Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln	
	210 215 220	
70	ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac	720
	Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His	
	225 230 235 240	
75	tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg	768
	Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met	
	245 250 255	
80	ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg	816
	Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser	
	260 265 270	
85	cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg	864
	Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala	
	275 280 285	
90	ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa	903

180

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300

5 <210> 114
 <211> 300
 <212> PRT
 10 <213> *Ostreococcus tauri*

15 <400> 114
 Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr
 1 5 10 15
 20 Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly
 20 25 30
 25 Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg
 35 40 45
 30 Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly
 50 55 60
 35 Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met
 65 70 75 80
 40 Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly
 85 90 95
 45 Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser
 100 105 110
 50 Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val
 115 120 125
 55 Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe
 130 135 140
 60 Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr
 145 150 155 160
 65 His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met
 165 170 175
 70 Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser
 180 185 190
 Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly :
 195 200 205
 Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln
 210 215 220
 Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His

181

225 230 235 240
 5 Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met
 245 250 255
 10 Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser
 260 265 270
 15 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala
 275 280 285
 20 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp
 290 295 300
 25 <210> 115
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> consensus
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(13)
 35 <223> Xaa in der Sequenz an der Position 2, 3, 4, 6, 7, 8 und 9 hat die
 in Tabelle A wiedergegebene Bedeutung.
 40 <400> 115
 Asn Xaa Xaa Xaa His Xaa Xaa Met Tyr Xaa Tyr Tyr Xaa
 1 5 10
 45 <210> 116
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> consensus
 50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(10)
 <223> Xaa an der Position 3, 4, 5 und 6 in der Sequenz hat die in Tabel
 le A wiedergegebene Bedeutung.
 55 <400> 116
 60 His His Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Ala Trp Trp
 1 5 10
 65 <210> 116
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> consensus
 70 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(10)
 <223> Xaa an der Position 3, 4, 5 und 6 in der Sequenz hat die in Tabel
 le A wiedergegebene Bedeutung.
 75 <400> 116

182

<210> 117
 <211> 909
 5 <212> DNA
 <213> *Xenopus laevis*
 10 <220>
 <221> CDS
 15 <222> (1) .. (909)
 <223> Delta-5-Elongase
 20 <400> 117
 atg gcc ttc aag gag ctc aca tca agg gca gtg ctc ctg tat gat gaa 48
 Met Ala Phe Lys Glu Leu Thr Ser Arg Ala Val Leu Leu Tyr Asp Glu
 1 5 10 15
 25 tgg att aaa gat gct gat cct agg gtt gaa gac tgg cca ctc atg tcc 96
 Trp Ile Lys Asp Ala Asp Pro Arg Val Glu Asp Trp Pro Leu Met Ser
 20 25 30
 30 tct cct atc cta caa acc atc atc atc ggc gct tac atc tac ttt gtc 144
 Ser Pro Ile Leu Gln Thr Ile Ile Ile Gly Ala Tyr Ile Tyr Phe Val
 35 40 45
 35 aca tca ttg ggc cca agg atc atg gag aac agg aag ccg ttt gct ctg 192
 Thr Ser Leu Gly Pro Arg Ile Met Glu Asn Arg Lys Pro Phe Ala Leu
 50 55 60
 40 aag gag atc atg gca tgt tac aac tta ttc atg gtt ctg ttt tct gtg 240
 Lys Glu Ile Met Ala Cys Tyr Asn Leu Phe Met Val Leu Phe Ser Val
 65 70 75 80
 45 tac atg tgc tat gag ttt ctc atg tgc ggc tgg gct act gga tat tcc 288
 Tyr Met Cys Tyr Glu Phe Leu Met Ser Gly Trp Ala Thr Gly Tyr Ser
 85 90 95
 50 ttt aga tgt gac att gtt gac tac tct cag tca cct cag gcg tta cgg 336
 Phe Arg Cys Asp Ile Val Asp Tyr Ser Gln Ser Pro Gln Ala Leu Arg
 100 105 110
 55 atg gcc tgg acc tgc tgg ctc ttc tat ttt tca aag ttc att gaa tta 384
 Met Ala Trp Thr Cys Trp Leu Phe Tyr Phe Ser Lys Phe Ile Glu Leu
 115 120 125
 60 tta gac act gtt ttc ttt gtg ctg cgt aag aag aac agc cag att aca 432
 Leu Asp Thr Val Phe Phe Val Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Ile Thr
 130 135 140
 65 ttc ctg cac gtc tat cac cac tcc att atg cct tgg acg tgg tgg ttt 480
 Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ile Met Pro Trp Thr Trp Trp Phe
 145 150 155 160
 70 gga gtc aaa ttt gct cca ggt ggt ttg ggc aca ttc cat gca ctg gtg 528
 Gly Val Lys Phe Ala Pro Gly Gly Leu Gly Thr Phe His Ala Leu Val
 165 170 175
 65 aac tgt gtg gtc cat gtt atc atg tac agc tac tac ggc ctg tca gcc 576
 Asn Cys Val Val His Val Ile Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala
 180 185 190
 70 ttg ggg cct gcc tac cag aag tac ctg tgg tgg aaa aag tac atg acg 624
 Leu Gly Pro Ala Tyr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Met Thr
 195 200 205

183

	tct atc caa ctg acc cag ttc ttg atg gtt act ttt cac atc ggc cag	672
	Ser Ile Gln Leu Thr Gln Phe Leu Met Val Thr Phe His Ile Gly Gln	
	210 215 220	
5	ttc ttc ttc atg gag aat tgc ccg tac cag tat ccc gtc ttc ttg tat	720
	Phe Phe Phe Met Glu Asn Cys Pro Tyr Gln Tyr Pro Val Phe Leu Tyr	
	225 230 235 240	
10	gtc att tgg ctg tac ggg ttc gtt ttc tta atc ttg ttc ctc aac ttc	768
	Val Ile Trp Leu Tyr Gly Phe Val Phe Leu Ile Leu Phe Leu Asn Phe	
	245 250 255	
15	tgg ttc cac gct tac atc aaa gga cag agg ctg ccg aaa gcc gtc caa	816
	Trp Phe His Ala Tyr Ile Lys Gly Gln Arg Leu Pro Lys Ala Val Gln	
	260 265 270	
20	aat ggc cac tgc aag aac aac aac aac caa gaa aac act tgg tgc aag	864
	Asn Gly His Cys Lys Asn Asn Asn Asn Asn Gln Glu Asn Thr Trp Cys Lys	
	275 280 285	
25	aac aaa aac cag aaa aac ggt gca ttg aaa agc aaa aac cat tga	909
	Asn Lys Asn Gln Lys Asn Gly Ala Leu Lys Ser Lys Asn His	
	290 295 300	
30	<210> 118	
	<211> 302	
	<212> PRT	
	<213> Xenopus laevis	
35	<400> 118	
40	Met Ala Phe Lys Glu Leu Thr Ser Arg Ala Val Leu Leu Tyr Asp Glu	
	1 5 10 15	
45	Trp Ile Lys Asp Ala Asp Pro Arg Val Glu Asp Trp Pro Leu Met Ser	
	20 25 30	
50	Ser Pro Ile Leu Gln Thr Ile Ile Ile Gly Ala Tyr Ile Tyr Phe Val	
	35 40 45	
55	Thr Ser Leu Gly Pro Arg Ile Met Glu Asn Arg Lys Pro Phe Ala Leu	
	50 55 60	
60	Lys Glu Ile Met Ala Cys Tyr Asn Leu Phe Met Val Leu Phe Ser Val	
	65 70 75 80	
65	Tyr Met Cys Tyr Glu Phe Leu Met Ser Gly Trp Ala Thr Gly Tyr Ser	
	85 90 95	
70	Phe Arg Cys Asp Ile Val Asp Tyr Ser Gln Ser Pro Gln Ala Leu Arg	
	100 105 110	
75	Met Ala Trp Thr Cys Trp Leu Phe Tyr Phe Ser Lys Phe Ile Glu Leu	
	115 120 125	
80	Leu Asp Thr Val Phe Phe Val Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Ile Thr	
	130 135 140	

184

Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ile Met Pro Trp Thr Trp Trp Phe
 145 150 155 160

5 Gly Val Lys Phe Ala Pro Gly Gly Leu Gly Thr Phe His Ala Leu Val
 165 170 175

10 Asn Cys Val Val His Val Ile Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala
 180 185 190

15 Leu Gly Pro Ala Tyr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Met Thr
 195 200 205

Ser Ile Gln Leu Thr Gln Phe Leu Met Val Thr Phe His Ile Gly Gln
 210 215 220

20 Phe Phe Phe Met Glu Asn Cys Pro Tyr Gln Tyr Pro Val Phe Leu Tyr
 225 230 235 240

25 Val Ile Trp Leu Tyr Gly Phe Val Phe Leu Ile Leu Phe Leu Asn Phe
 245 250 255

30 Trp Phe His Ala Tyr Ile Lys Gly Gln Arg Leu Pro Lys Ala Val Gln
 260 265 270

35 Asn Gly His Cys Lys Asn Asn Asn Asn Gln Glu Asn Thr Trp Cys Lys
 275 280 285

40 Asn Lys Asn Gln Lys Asn Gly Ala Leu Lys Ser Lys Asn His
 290 295 300

<210> 119
 <211> 870

45 <212> DNA
 <213> Ciona intestinalis

50 <220>
 <221> CDS

55 <222> (1)..(870)
 <223> Delta-5-Elongase

60 <400> 119
 atg gac gta ctt cat cgt ttc tta gga ttc tac gaa tgg acg ctg act 48
 Met Asp Val Leu His Arg Phe Leu Gly Phe Tyr Glu Trp Thr Leu Thr
 1 5 10 15

65 ttc gcg gac ccc cga gtg gca aaa tgg cct tta ata gaa aac ccc ctt 96
 Phe Ala Asp Pro Arg Val Ala Lys Trp Pro Leu Ile Glu Asn Pro Leu
 20 25 30

70 cct aca att gct att gtg ttg ctg tac ctg gcg ttt gtt ctg tat att 144
 Pro Thr Ile Ala Ile Val Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Val Leu Tyr Ile
 35 40 45

185

	ggg ccg cgt ttt atg cga aaa aga gca cca gtt gac ttt ggt tta ttc	192
	Gly Pro Arg Phe Met Arg Lys Arg Ala Pro Val Asp Phe Gly Leu Phe	
	50 55 60	
5	ctc cct gga tat aac ttt gct ttg gtt gca tta aat tat tat atc ctg	240
	Leu Pro Gly Tyr Asn Phe Ala Leu Val Ala Leu Asn Tyr Tyr Ile Leu	
	65 70 75 80	
10	caa gaa gtg gtc act ggg agt tat ggg gct ggg tat gat ttg gtt tgc	288
	Gln Glu Val Val Thr Gly Ser Tyr Gly Ala Gly Tyr Asp Leu Val Cys	
	85 90 95	
15	aca cca ctt cga agt gat tcc tac gat ccc aat gaa atg aag gtt gca	336
	Thr Pro Leu Arg Ser Asp Ser Tyr Asp Pro Asn Glu Met Lys Val Ala	
	100 105 110	
20	aac gct gta tgg tgg tat tat gta tcc aag ata ata gag ttg ttt gat	384
	Asn Ala Val Trp Trp Tyr Tyr Val Ser Lys Ile Ile Glu Leu Phe Asp	
	115 120 125	
25	act gtg ttg ttc act cta cgc aaa cga gac cga caa gta act ttc ctt	432
	Thr Val Leu Phe Thr Leu Arg Lys Arg Asp Arg Gln Val Thr Phe Leu	
	130 135 140	
30	cat gtt tat cac cat tct acc atg ccc ctg ttg tgg tgg att ggg gca	480
	His Val Tyr His His Ser Thr Met Pro Leu Leu Trp Trp Ile Gly Ala	
	145 150 155 160	
35	aag tgg gtg cct ggt ggg caa tca ttt gtt ggc atc ata ctg aac tcc	528
	Lys Trp Val Pro Gly Gly Gln Ser Phe Val Gly Ile Ile Leu Asn Ser	
	165 170 175	
40	agt gtt cat gtt atc atg tat acg tac tat gga ttg tca gcc ttg ggg	576
	Ser Val His Val Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Leu Gly	
	180 185 190	
45	cct cac atg cag aag ttt cta tgg tgg aag aaa tat atc aca atg ttg	624
	Pro His Met Gln Lys Phe Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Met Leu	
	195 200 205	
50	caa ctg gtt caa ttt gtt ctt gcc atc tac cat act gct cga tca ttg	672
	Gln Leu Val Gln Phe Val Leu Ala Ile Tyr His Thr Ala Arg Ser Leu	
	210 215 220	
55	tac gtt aaa tgt ccc tcg cct gtt tgg atg cac tgg gca ctt atc ttg	720
	Tyr Val Lys Cys Pro Ser Pro Val Trp Met His Trp Ala Leu Ile Leu	
	225 230 235 240	
60	tac gct ttc tca ttc att ttg ctt ttc tca aac ttc tac atg cat gcc	768
	Tyr Ala Phe Ser Phe Ile Leu Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Met His Ala	
	245 250 255	
65	tat atc aag aaa tca aga aaa ggg aaa gag aat ggc agt cga gga aaa	816
	Tyr Ile Lys Lys Ser Arg Lys Gly Lys Glu Asn Gly Ser Arg Gly Lys	
	260 265 270	
70	ggt ggt gta agt aat gga aag gaa aag ctg cac gct aat ggt aaa acc	864
	Gly Gly Val Ser Asn Gly Lys Glu Lys Leu His Ala Asn Gly Lys Thr	
	275 280 285	
75	gat taa	870
	Asp	
80	<210> 120	
85	<211> 289	
90	<212> PRT	
95	<213> Ciona intestinalis	

186

<400> 120

5 Met Asp Val Leu His Arg Phe Leu Gly Phe Tyr Glu Trp Thr Leu Thr
 1 5 10 15
 10 Phe Ala Asp Pro Arg Val Ala Lys Trp Pro Leu Ile Glu Asn Pro Leu
 20 25 30
 15 Pro Thr Ile Ala Ile Val Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Val Leu Tyr Ile
 35 40 45
 20 Gly Pro Arg Phe Met Arg Lys Arg Ala Pro Val Asp Phe Gly Leu Phe
 50 55 60
 25 Leu Pro Gly Tyr Asn Phe Ala Leu Val Ala Leu Asn Tyr Tyr Ile Leu
 65 70 75 80
 30 Gln Glu Val Val Thr Gly Ser Tyr Gly Ala Gly Tyr Asp Leu Val Cys
 85 90 95
 35 Thr Pro Leu Arg Ser Asp Ser Tyr Asp Pro Asn Glu Met Lys Val Ala
 100 105 110
 40 Asn Ala Val Trp Trp Tyr Tyr Val Ser Lys Ile Ile Glu Leu Phe Asp
 115 120 125
 45 Thr Val Leu Phe Thr Leu Arg Lys Arg Asp Arg Gln Val Thr Phe Leu
 130 135 140
 50 His Val Tyr His His Ser Thr Met Pro Leu Leu Trp Trp Ile Gly Ala
 145 150 155 160
 55 Lys Trp Val Pro Gly Gly Gln Ser Phe Val Gly Ile Ile Leu Asn Ser
 165 170 175
 60 Ser Val His Val Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Leu Gly
 180 185 190
 65 Pro His Met Gln Lys Phe Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Met Leu
 195 200 205
 70 Gln Leu Val Gln Phe Val Leu Ala Ile Tyr His Thr Ala Arg Ser Leu
 210 215 220
 75 Tyr Val Lys Cys Pro Ser Pro Val Trp Met His Trp Ala Leu Ile Leu
 225 230 235 240
 80 Tyr Ala Phe Ser Phe Ile Leu Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Met His Ala
 245 250 255
 Gly Ile Lys Lys Ser Arg Lys Gly Lys Glu Asn Gly Ser Arg Gly Lys
 260 265 270
 Gly Gly Val Ser Asn Gly Lys Glu Lys Leu His Ala Asn Gly Lys Thr

187

275

280

285

5

Asp

<210> 121

10

<211> 30

<212> DNA

15

<213> primer

<220>

20

<221> misc_feature

<222> (1)..(30)

<223>

25

<400> 121

aggatccatg gccttcaagg agctcacatc

30

30

<210> 122

<211> 35

35

<212> DNA

<213> primer

40

<220>

<221> misc_feature

45

<222> (1)..(35)

<223>

50

<400> 122

cctcgagtca atgggtttttg cttttcaatg caccg

55

35

<210> 123

<211> 25

60

<212> DNA

<213> primer

65

<220>

<221> misc_feature

70

<222> (1)..(25)

<223>

5 <400> 123
 taagcttatg gacgtacttc atcgt 25

10 <210> 124
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> primer

15 <220>
 <221> misc_feature

20 <222> (1) .. (26)
 <223>

25 <400> 124
 tcagatcttt aatcggtttt accatt 26

30 <210> 125
 <211> 34

35 <212> DNA
 <213> primer

40 <220>
 <221> misc_feature

45 <222> (1) .. (34)
 <223>

50 <400> 125
 gcggccgcac catggccttc aaggagctca catc 34

55 <210> 126
 <211> 38

60 <212> DNA
 <213> primer

65 <220>
 <221> misc_feature

70 <222> (1) .. (38)
 <223>

5 <400> 126
gcggccgcct tcaatggttt ttgcttttca atgcaccg 38

10 <210> 127
<211> 29
<212> DNA
<213> primer

15 <220>
<221> misc_feature
20 <222> (1)..(29)
<223>

25 <400> 127
gcggccgcac catggacgta cttcatcgt 29

30 <210> 128
<211> 27
35 <212> DNA
<213> primer

40 <220>
<221> misc_feature
45 <222> (1)..(27)
<223>

50 <400> 128
gcggccgctt taatcggttt taccatt 27

55 <210> 129
<211> 60
60 <212> DNA
<213> primer

65 <220>
<221> misc_feature
70 <222> (1)..(60)
<223>

190

5 <400> 129
 gtcgaccgcg ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

10 <210> 130
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> primer

15 <220>
 <221> misc_feature
 20 <222> (1)..(60)
 <223>

25 <400> 130
 gtcgaccgcg ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

30 <210> 131
 <211> 789
 35 <212> DNA
 <213> *Euglena gracilis*

40 <220>
 <221> CDS
 45 <222> (1)..(789)
 <223> Delta-5-Elongase

50 <400> 131
 atg ctg ggg gcc atc gcg gac gtc gtg ctc cgg ggg ccc gcc gca ttc 48
 Met Leu Gly Ala Ile Ala Asp Val Val Leu Arg Gly Pro Ala Ala Phe
 1 5 10 15

55 cac tgg gac cct gcc acc acc ccg ctc gca tcg atc gtc agc ccc tgt 96
 His Trp Asp Pro Ala Thr Thr Pro Leu Ala Ser Ile Val Ser Pro Cys
 20 25 30

60 gtg gcc tcc gtg gcg tac ctg ggg gcc atc ggg ctg ctg aag cgc cgc 144
 Val Ala Ser Val Ala Tyr Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Lys Arg Arg
 35 40 45

65 act gga ccg gag gtc cgc tcc aag ccc ttc gag ctg cta cac aac ggg 192
 Thr Gly Pro Glu Val Arg Ser Lys Pro Phe Glu Leu Leu His Asn Gly
 50 55 60

70 ctg ctg gtg ggc tgg tcc ctc gtg gtg ctg ctc ggg acg ctg tac ggc 240
 Leu Leu Val Gly Trp Ser Leu Val Val Leu Gly Thr Leu Tyr Gly
 65 70 75 80

gcg ttc cag cgc gtg cag gag gac ggc cgg ggg gtg cag gcc ctc ctg 288
 Ala Phe Gln Arg Val Gln Glu Asp Gly Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu

191

	85	90	95	
5	tgc acc cag cgg cca cca tct cag atc tgg gac ggc ccg gtg ggg tac Cys Thr Gln Arg Pro Pro Ser Gln Ile Trp Asp Gly Pro Val Gly Tyr 100 105 110	336		
10	ttc acg tac ctc ttc tac ctc gcg aag tac tgg gag ctg gcg gac act Phe Thr Tyr Leu Phe Tyr Leu Ala Lys Tyr Trp Glu Leu Ala Asp Thr 115 120 125	384		
15	gtc atc ctc gcc ctc cgc cag aag ccc acc atc ccc ctc cac gtc tac Val Ile Leu Ala Leu Arg Gln Lys Pro Thr Ile Pro Leu His Val Tyr 130 135 140	432		
20	cat cac gcc gtc atg ctg ttc atc gtg tgg tgc tgg ttc gcg cac ccc His His Ala Val Met Leu Phe Ile Val Trp Ser Trp Phe Ala His Pro 145 150 155 160	480		
25	tgg ctc gag ggg agc tgg tgg tgc tcc ctg gtc aac tct ttc atc cac Trp Leu Glu Gly Ser Trp Trp Cys Ser Leu Val Asn Ser Phe Ile His 165 170 175	528		
30	acg gtg atg tac tgc tac tac acc ctg acg gtg gtt ggc atc aac cct Thr Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Ile Asn Pro 180 185 190	576		
35	tgg tgg aag aag tgg atg acc acc atg cag atc atc cag ttc atc acg Trp Trp Lys Lys Trp Met Thr Thr Met Gln Ile Ile Gln Phe Ile Thr 195 200 205	624		
40	ggc tgc gtg tac gtc atg gcg ttc ttc ggc cta tat tat gcc ggg gcg Gly Cys Val Tyr Val Met Ala Phe Phe Gly Leu Tyr Tyr Ala Gly Ala 210 215 220	672		
45	ggc tgc acc tcc aac gtg tac act gcc tgg ttc tgc atg ggg gtc aac Gly Cys Thr Ser Asn Val Tyr Thr Ala Trp Phe Ser Met Gly Val Asn 225 230 235 240	720		
50	ctc agc ttt ctg tgg ctc ttc gct ctt ttc ttc cgc cgg tca tac agc Leu Ser Phe Leu Trp Leu Phe Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ser Tyr Ser 245 250 255	768		
55	aaa cct agc cgg aag gag tag Lys Pro Ser Arg Lys Glu 260	789		
60	<210> 132			
65	<211> 262			
70	<212> PRT			
	<213> Euglena gracilis			
	<400> 132			
60	Met Leu Gly Ala Ile Ala Asp Val Val Leu Arg Gly Pro Ala Ala Phe 1 5 10 15			
65	His Trp Asp Pro Ala Thr Thr Pro Leu Ala Ser Ile Val Ser Pro Cys 20 25 30			
70	Val Ala Ser Val Ala Tyr Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Lys Arg Arg 35 40 45			
	Thr Gly Pro Glu Val Arg Ser Lys Pro Phe Glu Leu Leu His Asn Gly 50 55 60			

192

5 Leu Leu Val Gly Trp Ser Leu Val Val Leu Leu Gly Thr Leu Tyr Gly
65 70 75 80

10 Ala Phe Gln Arg Val Gln Glu Asp Gly Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu
85 90 95

15 Cys Thr Gln Arg Pro Pro Ser Gln Ile Trp Asp Gly Pro Val Gly Tyr
100 105 110

20 Phe Thr Tyr Leu Phe Tyr Leu Ala Lys Tyr Trp Glu Leu Ala Asp Thr
115 120 125

25 Val Ile Leu Ala Leu Arg Gln Lys Pro Thr Ile Pro Leu His Val Tyr
130 135 140

30 His His Ala Val Met Leu Phe Ile Val Trp Ser Trp Phe Ala His Pro
145 150 155 160

35 Trp Leu Glu Gly Ser Trp Trp Cys Ser Leu Val Asn Ser Phe Ile His
165 170 175

40 Thr Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Ile Asn Pro
180 185 190

45 Trp Trp Lys Lys Trp Met Thr Thr Met Gln Ile Ile Gln Phe Ile Thr
195 200 205

50 Gly Cys Val Tyr Val Met Ala Phe Phe Gly Leu Tyr Tyr Ala Gly Ala
210 215 220

55 Gly Cys Thr Ser Asn Val Tyr Thr Ala Trp Phe Ser Met Gly Val Asn
225 230 235 240

60 Leu Ser Phe Leu Trp Leu Phe Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ser Tyr Ser
245 250 255

65 Lys Pro Ser Arg Lys Glu
260

70 <210> 133
<211> 789
<212> DNA
<213> Euglena gracilis

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(789)
<223> Delta-5-Elongase

193

[illegible]

194

<210> 134
<211> 262
5 <212> PRT
<213> *Euglena gracilis*

10
<400> 134

Met Leu Gly Ala Ile Ala Asp Val Val Leu Arg Gly Pro Ala Ala Phe
1 5 10 15
His Trp Asp Pro Ala Thr Thr Pro Leu Ala Ser Ile Val Ser Pro Cys
20 25 30
Val Ala Ser Val Ala Tyr Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Lys Arg Arg
35 40 45
Thr Gly Pro Glu Val Arg Ser Lys Pro Phe Glu Leu Leu His Asn Gly
50 55 60
Leu Leu Val Gly Trp Ser Leu Val Val Leu Leu Gly Thr Leu Tyr Gly
65 70 75 80
Ala Tyr Gln Arg Val Gln Glu Asp Gly Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu
85 90 95
Cys Thr Gln Arg Pro Pro Ser Gln Ile Trp Asp Gly Pro Val Gly Tyr
100 105 110
Phe Thr Tyr Leu Phe Tyr Leu Ala Lys Tyr Trp Glu Leu Val Asp Thr
115 120 125
Val Ile Leu Ala Leu Arg Gln Lys Pro Thr Ile Pro Leu His Val Tyr
130 135 140
His His Ala Val Met Leu Phe Ile Val Trp Ser Trp Phe Ala His Pro
145 150 155 160
Trp Leu Glu Gly Ser Trp Trp Cys Ser Leu Val Asn Ser Phe Ile His
165 170 175
Thr Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Ile Asn Pro
180 185 190
Trp Trp Lys Lys Trp Met Thr Thr Met Gln Ile Ile Gln Phe Ile Thr
195 200 205
Gly Cys Val Tyr Val Thr Ala Phe Phe Gly Leu Tyr Tyr Ala Gly Ala
210 215 220
Gly Cys Thr Ser Asn Val Tyr Thr Ala Trp Phe Ser Met Gly Val Asn
225 230 235 240
Leu Ser Phe Leu Trp Leu Phe Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ser Tyr Ser

195

245

250

255

5 Lys Pro Ser Arg Lys Glu
260

<210> 135

10 <211> 897

<212> DNA

15 <213> Arabidopsis thaliana

<220>

20 <221> CDS

<222> (1)..(897)

25 <223> Delta-5-Elongase

<400> 135

30 atg gca tct gtt tac tcc acc cta acc tac tgg ctc gtc cac cac ccc 48
Met Ala Ser Val Tyr Ser Thr Leu Thr Tyr Trp Leu Val His His Pro
1 5 10 15

tac att gcc aac ttc acg tgg acc gaa ggt gaa aca cta ggc tcc acc 96
Tyr Ile Ala Asn Phe Thr Trp Thr Glu Gly Glu Thr Leu Gly Ser Thr
20 25 30

gtt ttc ttt gtc ttt gtc gtc gtc tcc ctt tac ctc tcc gcc aca ttc 144
Val Phe Phe Val Phe Val Val Val Ser Leu Tyr Leu Ser Ala Thr Phe
35 40

ctc ctc cga tac acc gtc gat tca ctc ccc aca ctc ggt ccc cgc att 192
Leu Leu Arg Tyr Thr Val Asp Ser Leu Pro Thr Leu Gly Pro Arg Ile
50 55 60

ctc aaa cca atc aca gcc gtt cac agc ctc att ctc ttc ctc ctc tcc 240
Leu Lys Pro Ile Thr Ala Val His Ser Leu Ile Leu Phe Leu Leu Ser
65 70 75 80

tta acc atg gcc gtt ggt tgc act ctc tcc cta atc tct tcc tcg gac 288
Leu Thr Met Ala Val Gly Cys Thr Leu Ser Leu Ile Ser Ser Ser Asp
85 90 95

ccg aag gcg cgt ctc ttc gac gcc gtt tgt ttc ccc ctc gac gtg aaa 336
Pro Lys Ala Arg Leu Phe Asp Ala Val Cys Phe Pro Leu Asp Val Lys
100 105 110

cct aag gga ccg ctt ttc ttt tgg gct caa gtc ttt tac ctc tcg aag 384
Pro Lys Gly Pro Leu Phe Phe Trp Ala Gln Val Phe Tyr Leu Ser Lys
115 120 125

atc ctt gag ttc gta gac aca ctt ctc atc ata ctc aac aaa tca atc 432
Ile Leu Glu Phe Val Asp Thr Leu Leu Ile Ile Leu Asn Lys Ser Ile
130 135 140

caa cgg ctc tcg ttc ctc cac gtc tac cac cac gca acg gtt gtg att 480
Gln Arg Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Thr Val Val Ile
145 150 155 160

ttg tgc tac ctc tgg tta cga aca cgt caa tcg atg ttt cct gtt ggg 528
Leu Cys Tyr Leu Trp Leu Arg Thr Arg Gln Ser Met Phe Pro Val Gly
165 170 175

ctc gtg ttg aac tcg acg gtc cat gtg att atg tac ggg tac tat ttc 576

196

	Leu	Val	Leu	Asn	Ser	Thr	Val	His	Val	Ile	Met	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Phe	
				180					185					190			
5	ctc	tgc	gct	atc	gga	tcg	agg	ccc	aag	tgg	aag	aag	ttg	gtg	acg	aat	624
	Leu	Cys	Ala	Ile	Gly	Ser	Arg	Pro	Lys	Trp	Lys	Lys	Leu	Val	Thr	Asn	
			195					200					205				
10	ttt	caa	atg	gtt	cag	ttt	gct	ttc	ggc	atg	ggg	tta	gga	gcc	gct	tgg	672
	Phe	Gln	Met	Val	Gln	Phe	Ala	Phe	Gly	Met	Gly	Leu	Gly	Ala	Ala	Trp	
		210					215					220					
15	atg	ctc	cca	gag	cat	tat	ttc	ggg	tcg	ggt	tgc	gcc	ggg	att	tgg	aca	720
	Met	Leu	Pro	Glu	His	Tyr	Phe	Gly	Ser	Gly	Cys	Ala	Gly	Ile	Trp	Thr	
		225				230					235					240	
20	gtt	tat	ttc	aat	ggt	gtg	ttt	act	gct	tct	cta	ttg	gct	ctc	ttc	tac	768
	Val	Tyr	Phe	Asn	Gly	Val	Phe	Thr	Ala	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	Phe	Tyr	
					245					250					255		
25	aac	ttc	cac	tcc	aag	aac	tat	gag	aag	act	aca	acg	tcg	cct	ttg	tat	816
	Asn	Phe	His	Ser	Lys	Asn	Tyr	Glu	Lys	Thr	Thr	Thr	Ser	Pro	Leu	Tyr	
				260					265					270			
30	aag	atc	gaa	tcc	ttt	ata	ttt	att	cac	gga	gag	agg	tgg	gca	aat	aaa	864
	Lys	Ile	Glu	Ser	Phe	Ile	Phe	Ile	His	Gly	Glu	Arg	Trp	Ala	Asn	Lys	
			275					280					285				
35	gcg	att	aca	tta	ttt	tcc	aag	aaa	aac	gat	taa						897
	Ala	Ile	Thr	Leu	Phe	Ser	Lys	Lys	Asn	Asp							
		290					295										
40	<210>																136
45	<211>																298
	<212>																PRT
	<213>																Arabidopsis thaliana
50	<400>																136
55	Met	Ala	Ser	Val	Tyr	Ser	Thr	Leu	Thr	Tyr	Trp	Leu	Val	His	His	Pro	
	1				5					10				15			
60	Tyr	Ile	Ala	Asn	Phe	Thr	Trp	Thr	Glu	Gly	Glu	Thr	Leu	Gly	Ser	Thr	
				20					25					30			
65	Val	Phe	Phe	Val	Phe	Val	Val	Val	Ser	Leu	Tyr	Leu	Ser	Ala	Thr	Phe	
			35					40					45				
70	Leu	Leu	Arg	Tyr	Thr	Val	Asp	Ser	Leu	Pro	Thr	Leu	Gly	Pro	Arg	Ile	
		50					55					60					
75	Leu	Lys	Pro	Ile	Thr	Ala	Val	His	Ser	Leu	Ile	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	
		65				70					75					80	
80	Leu	Thr	Met	Ala	Val	Gly	Cys	Thr	Leu	Ser	Leu	Ile	Ser	Ser	Ser	Asp	
				85					90						95		
85	Pro	Lys	Ala	Arg	Leu	Phe	Asp	Ala	Val	Cys	Phe	Pro	Leu	Asp	Val	Lys	
				100					105					110			
90	Pro	Lys	Gly	Pro	Leu	Phe	Phe	Trp	Ala	Gln	Val	Phe	Tyr	Leu	Ser	Lys	

197

	115	120	125	
5	Ile Leu Glu Phe Val Asp Thr Leu Leu Ile Ile Leu Asn Lys Ser Ile 130 135 140			
10	Gln Arg Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Thr Val Val Ile 145 150 155 160			
15	Leu Cys Tyr Leu Trp Leu Arg Thr Arg Gln Ser Met Phe Pro Val Gly 165 170 175			
20	Leu Val Leu Asn Ser Thr Val His Val Ile Met Tyr Gly Tyr Tyr Phe 180 185 190			
25	Leu Cys Ala Ile Gly Ser Arg Pro Lys Trp Lys Lys Leu Val Thr Asn 195 200 205			
30	Phe Gln Met Val Gln Phe Ala Phe Gly Met Gly Leu Gly Ala Ala Trp 210 215 220			
35	Met Leu Pro Glu His Tyr Phe Gly Ser Gly Cys Ala Gly Ile Trp Thr 225 230 235 240			
40	Val Tyr Phe Asn Gly Val Phe Thr Ala Ser Leu Leu Ala Leu Phe Tyr 245 250 255			
45	Asn Phe His Ser Lys Asn Tyr Glu Lys Thr Thr Thr Ser Pro Leu Tyr 260 265 270			
50	Lys Ile Glu Ser Phe Ile Phe Ile His Gly Glu Arg Trp Ala Asn Lys 275 280 285			
55	Ala Ile Thr Leu Phe Ser Lys Lys Asn Asp 290 295			
60	<210> 137			
65	<211> 837			
	<212> DNA			
	<213> Arabidopsis thaliana			
	<220>			
	<221> CDS			
	<222> (1)..(837)			
	<223> Delta-5-Elongase			
70	<400> 137 atg gca tca att tac tcc tct tta acc tac tgg ctc gtt aac cac ccc Met Ala Ser Ile Tyr Ser Ser Leu Thr Tyr Trp Leu Val Asn His Pro 1 5 10 15			48
	tac atc tcc aat ttt act tgg atc gaa ggt gaa acc cta ggc tcc acc			96

198

	Tyr	Ile	Ser	Asn	Phe	Thr	Trp	Ile	Glu	Gly	Glu	Thr	Leu	Gly	Ser	Thr	
				20					25				30				
5	gtc	ttt	ttc	gta	tcc	gtc	gta	gtc	tcc	gtt	tac	ctc	tcc	gcc	acg	ttc	144
	Val	Phe	Phe	Val	Ser	Val	Val	Val	Ser	Val	Tyr	Leu	Ser	Ala	Thr	Phe	
			35					40					45				
10	ctc	ctc	cga	tcc	gcc	atc	gat	tca	ctc	cca	tca	ctc	agt	cca	cgt	atc	192
	Leu	Leu	Arg	Ser	Ala	Ile	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Leu	Ser	Pro	Arg	Ile	
			50				55					60					
15	ctc	aaa	ccg	atc	aca	gcc	gtc	cac	agc	cta	atc	ctc	tgt	ctc	ctc	tcc	240
	Leu	Lys	Pro	Ile	Thr	Ala	Val	His	Ser	Leu	Ile	Leu	Cys	Leu	Leu	Ser	
	65					70					75					80	
	tta	gtc	atg	gcc	gtc	ggg	tgc	act	ctc	tca	ata	acc	tca	tct	cac	gcg	288
	Leu	Val	Met	Ala	Val	Gly	Cys	Thr	Leu	Ser	Ile	Thr	Ser	Ser	His	Ala	
					85					90					95		
20	tct	tca	gat	ccg	atg	gcg	cgt	ttc	ctt	cac	gcg	att	tgc	ttt	ccc	gtc	336
	Ser	Ser	Asp	Pro	Met	Ala	Arg	Phe	Leu	His	Ala	Ile	Cys	Phe	Pro	Val	
				100					105					110			
25	gac	gtt	aaa	cct	aac	gga	ccg	ctt	ttc	ttc	tgg	gct	caa	gtc	ttc	tac	384
	Asp	Val	Lys	Pro	Asn	Gly	Pro	Leu	Phe	Phe	Trp	Ala	Gln	Val	Phe	Tyr	
			115				120						125				
30	ctc	tcg	aag	atc	ctc	gag	ttc	gga	gac	acg	atc	ctc	atc	ata	ctc	ggc	432
	Leu	Ser	Lys	Ile	Leu	Glu	Phe	Gly	Asp	Thr	Ile	Leu	Ile	Ile	Leu	Gly	
			130				135					140					
35	aaa	tca	atc	caa	cgg	cta	tcc	ttc	ctc	cac	gtg	tac	cac	cac	gcg	acg	480
	Lys	Ser	Ile	Gln	Arg	Leu	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	His	His	Ala	Thr	
	145					150					155					160	
	gtt	gtg	gtc	atg	tgt	tat	ctc	tgg	ctc	cga	act	cgc	caa	tcg	atg	ttt	528
	Val	Val	Val	Met	Cys	Tyr	Leu	Trp	Leu	Arg	Thr	Arg	Gln	Ser	Met	Phe	
					165					170					175		
40	ccg	att	gcg	ctc	gtg	acg	aat	tcg	acg	gta	cac	gtc	atc	atg	tac	ggg	576
	Pro	Ile	Ala	Leu	Val	Thr	Asn	Ser	Thr	Val	His	Val	Ile	Met	Tyr	Gly	
				180					185					190			
45	tac	tac	ttc	ctc	tgc	gcc	gtt	gga	tcg	agg	ccc	aag	tgg	aag	aga	ttg	624
	Tyr	Tyr	Phe	Leu	Cys	Ala	Val	Gly	Ser	Arg	Pro	Lys	Trp	Lys	Arg	Leu	
			195					200					205				
50	gtg	acg	gat	tgt	cag	att	gtt	cag	ttt	gtt	ttc	agt	ttc	ggg	tta	tcc	672
	Val	Thr	Asp	Cys	Gln	Ile	Val	Gln	Phe	Val	Phe	Ser	Phe	Gly	Leu	Ser	
			210				215					220					
55	ggg	tgg	atg	ctc	cga	gag	cac	tta	ttc	ggg	tcg	ggg	tgc	acc	ggg	att	720
	Gly	Trp	Met	Leu	Arg	Glu	His	Leu	Phe	Gly	Ser	Gly	Cys	Thr	Gly	Ile	
	225					230					235					240	
	tgg	gga	tgg	tgt	ttc	aac	gct	gca	ttt	aat	gct	tct	ctt	ttg	gct	ctc	768
	Trp	Gly	Trp	Cys	Phe	Asn	Ala	Ala	Phe	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	
					245					250					255		
60	ttt	tcc	aac	ttc	cat	tca	aag	aat	tat	gtc	aag	aag	cca	acg	aga	gag	816
	Phe	Ser	Asn	Phe	His	Ser	Lys	Asn	Tyr	Val	Lys	Lys	Pro	Thr	Arg	Glu	
				260					265					270			
65	gat	ggc	aaa	aaa	agc	gat	tag										837
	Asp	Gly	Lys	Lys	Ser	Asp											
			275														
70	<210>	138															
	<211>	278															

199

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

5

<400> 138

10 Met Ala Ser Ile Tyr Ser Ser Leu Thr Tyr Trp Leu Val Asn His Pro
1 5 10 15

15 Tyr Ile Ser Asn Phe Thr Trp Ile Glu Gly Glu Thr Leu Gly Ser Thr
20 25 30

Val Phe Phe Val Ser Val Val Val Ser Val Tyr Leu Ser Ala Thr Phe
35 40 45

20 Leu Leu Arg Ser Ala Ile Asp Ser Leu Pro Ser Leu Ser Pro Arg Ile
50 55 60

25 Leu Lys Pro Ile Thr Ala Val His Ser Leu Ile Leu Cys Leu Leu Ser
65 70 75 80

30 Leu Val Met Ala Val Gly Cys Thr Leu Ser Ile Thr Ser Ser His Ala
85 90 95

35 Ser Ser Asp Pro Met Ala Arg Phe Leu His Ala Ile Cys Phe Pro Val
100 105 110

Asp Val Lys Pro Asn Gly Pro Leu Phe Phe Trp Ala Gln Val Phe Tyr
115 120 125

40 Leu Ser Lys Ile Leu Glu Phe Gly Asp Thr Ile Leu Ile Ile Leu Gly
130 135 140

45 Lys Ser Ile Gln Arg Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Thr
145 150 155 160

50 Val Val Val Met Cys Tyr Leu Trp Leu Arg Thr Arg Gln Ser Met Phe
165 170 175

55 Pro Ile Ala Leu Val Thr Asn Ser Thr Val His Val Ile Met Tyr Gly
180 185 190

Tyr Tyr Phe Leu Cys Ala Val Gly Ser Arg Pro Lys Trp Lys Arg Leu
195 200 205

60 Val Thr Asp Cys Gln Ile Val Gln Phe Val Phe Ser Phe Gly Leu Ser
210 215 220

65 Gly Trp Met Leu Arg Glu His Leu Phe Gly Ser Gly Cys Thr Gly Ile
225 230 235 240

70 Trp Gly Trp Cys Phe Asn Ala Ala Phe Asn Ala Ser Leu Leu Ala Leu
245 250 255

Phe Ser Asn Phe His Ser Lys Asn Tyr Val Lys Lys Pro Thr Arg Glu

200

260

265

270

5 Asp Gly Lys Lys Ser Asp
275

<210> 139

10 <211> 6

<212> PRT

15 <213> consensus

<220>

20 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(6)

25 <223> Xaa in der Position 3 und 4 in der Sequenz hat die in Tabelle A w
iedergergebene Bedeutung.

<400> 139

30 Leu His Xaa Xaa His His
1 5

35 <210> 140

<211> 8

<212> PRT

40 <213> consensus

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(8)

50 <223> Xaa an der Position 2, 3, 5 und 6 in der Sequenz hat die in Tabel
le A wiedergegebene Bedeutung.

<400> 140

55 Thr Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Gln Phe
1 5

60 <210> 141

<211> 6

65 <212> PRT

<213> consensus

70 <220>

201

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(6)
5 <223> Xaa an Postion 3 in der Sequenz hat die in Tabelle A wiedergegebene Bedeutung.

10 <400> 141
Asp Thr Xaa Phe Met Val
1 5

15 <210> 142
<211> 8
20 <212> PRT
<213> consensus

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
30 <222> (1)..(8)
<223> Xaa an Postion 5 und 6 in der Sequenz hat die in Tabelle A wiedergegebene Bedeutung.

35 <400> 142
Thr Gln Ala Gln Xaa Xaa Gln Phe
40 1 5

<210> 143
45 <211> 60
<212> DNA
<213> primer

50 <220>
55 <221> misc_feature
<222> (1)..(60)
<223>

60
65 <400> 143
gtcgaacccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

<210> 144
<211> 60
70 <212> DNA

202

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature

10 <222> (1) .. (60)
<223>

15 <400> 144
gtcgacccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

20 <210> 145
<211> 36
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (36)

35 <223>

40 <400> 145
ggtaccacat aatgtgcgtg gagacggaaa ataacg 36

45 <210> 146
<211> 33
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (33)

60 <223>

65 <400> 146
ctcgagttac gccgtctttc cggagtgttg gcc 33

70 <210> 147
<211> 24
<212> DNA

203

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature

10 <222> (1)..(24)
<223>

15 <400> 147
gcggccgctt acgtggactt ggtc 24

20 <210> 148
<211> 24
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(24)

35 <223>

40 <400> 148
gcggccgcat ggcgacgaag gagg 24

45 <210> 149
<211> 25
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(25)

60 <223>

65 <400> 149
taagcttaca tggcgacgaa ggagg 25

70 <210> 150
<211> 24
<212> DNA

204

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(24)
10 <223>

15 <400> 150
tggatccact tacgtggact tggt 24

20 <210> 151
<211> 60
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(60)
35 <223>

40 <400> 151
gtcgcacccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

45 <210> 152
<211> 31
<212> DNA

50 <213> primer

<220>
55 <221> misc_feature
<222> (1)..(31)
<223>
60

65 <400> 152
gcggccgcac catgtgctca ccaccgccgt c 31

70 <210> 153
<211> 26
<212> DNA

205

<213> primer

5 <220>

<221> misc_feature

10 <222> (1)..(26)

<223>

15 <400> 153
gcggccgcct acatggcacc agtaac

26

20 <210> 154

<211> 31

<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(31)

35 <223>

40 <400> 154
gcggccgcac catgtgctca tcaccgccgt c

31

<210> 155

45 <211> 26

<212> DNA

50 <213> primer

<220>

55 <221> misc_feature

<222> (1)..(26)

<223>

60

65 <400> 155
gcggccgcct acatggcacc agtaac

26

<210> 156

<211> 31

70 <212> DNA

206

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(31)
10 <223>

15 <400> 156
gcggccgcac catggacgcc tacaacgctg c 31

20 <210> 157
<211> 27
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(27)
35 <223>

40 <400> 157
gcggccgcct aagcactctt cttcttt 27

45 <210> 158
<211> 23
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(23)
60 <223>

65 <400> 158
accatgtgct caccaccgcc gtc 23

70 <210> 159
<211> 18
<212> DNA

207

<213> primer

5 <220>

<221> misc_feature

10 <222> (1)..(18)

<223>

15 <400> 159
ctacatggca ccagtaac

18

20 <210> 160

<211> 23

<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(23)

35 <223>

40 <400> 160
accatgtgct catcacggcc gtc

23

<210> 161

45 <211> 18

<212> DNA

50 <213> primer

<220>

55 <221> misc_feature

<222> (1)..(18)

<223>

60

65 <400> 161
ctacatggca ccagtaac

18

<210> 162

70 <211> 23

<212> DNA

208

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature

10 <222> (1)..(23)
<223>

15 <400> 162
accatggacg cctacaacgc tgc 23

20 <210> 163
<211> 19
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(19)

35 <223>

40 <400> 163
ctaagcactc ttctttcttt 19

<210> 164

45 <211> 60
<212> DNA

50 <213> primer

<220>

55 <221> misc_feature
<222> (1)..(60)

60 <223>

<400> 164
gtcgaccgcg ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

65

<210> 165

70 <211> 60
<212> DNA

209

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature

10 <222> (1)..(60)
<223>

15 <400> 165
gtcgacccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

20 <210> 166
<211> 29
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(29)
<223>

35

40 <400> 166
gcggccgcat aatgacgagc aacatgagc 29

45 <210> 167
<211> 29
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(29)
<223>

60

65 <400> 167
gcggccgctt aggccgactt ggccttggg 29

70 <210> 168
<211> 34
<212> DNA

210

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(34)
10 <223>

15 <400> 168
gcggccgcac catggacgtc gtcgagcagc aatg 34

20 <210> 169
<211> 36
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(36)
35 <223>

40 <400> 169
gcggccgctt agatggtctt ctgcttcttg ggcgcc 36

45 <210> 170
<211> 23
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(23)
60 <223>

65 <400> 170
gacataatga cgagcaacat gag 23

70 <210> 171
<211> 25
<212> DNA

211

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(25)
10 <223>

15 <400> 171
cggcttaggc cgacttggcc ttggg 25

20 <210> 172
<211> 30
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(30)
35 <223>

40 <400> 172
agacataatg gacgtcgtcg agcagcaatg 30

45 <210> 173
<211> 28
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(28)
60 <223>

65 <400> 173
ttagatggtc ttctgcttct tgggcgcc 28

70 <210> 174
<211> 60
<212> DNA

212

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature

10 <222> (1)..(60)
<223>

15 <400> 174
gtcgcaccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccgatctgc tggctatgaa 60

20 <210> 175
<211> 29
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(29)
<223>

35

40 <400> 175
gcggccgc ataatggcttca acatggcaa 29

45 <210> 176
<211> 32
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(32)
<223>

60

65 <400> 176
gcggccgctt atgtcttctt gctcttctg tt 32

70 <210> 177
<211> 26
<212> DNA

213

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(26)
10 <223>

15 <400> 177
gcggccgcat aatggagact tttaat 26

20 <210> 178
<211> 28
<212> DNA

25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(28)
35 <223>

40 <400> 178
gcggccgctc agtccccct cactttcc 28

45 <210> 179
<211> 29
<212> DNA

50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(29)
60 <223>

65 <400> 179
aagcttacat aatggcttca acatggcaa 29

70 <210> 180
<211> 30
<212> DNA

214

<213> primer

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(30)
10 <223>

15 <400> 180
ggatccttat gtcttcttgc tcttctgtt 3.0

20 <210> 181
<211> 26
<212> DNA
25 <213> primer

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(26)
35 <223>

40 <400> 181
aagcttacat aatggagact tttaat 26

45 <210> 182
<211> 27
<212> DNA
50 <213> primer

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(27)
60 <223>

65 <400> 182
ggatccttca gtccccctc actttcc 27